

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Imunoterapia do cancro colorectal

Sofia do Rosário Martins

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2017

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



Imunoterapia do cancro colorectal

Sofia do Rosário Martins

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

Orientador: Professor Doutor João Pedro Fidalgo Rocha

2017

DEDICATÓRIA

A todos os que sofrem com o cancro:
Que o Medo não seja superior à vossa FÉ.

AGRADECIMENTOS

Começo por agradecer ao meu orientador, o Professor Doutor João Pedro Fidalgo Rocha por ter aceite a orientação deste trabalho, pela sua compreensão, disponibilidade e sugestões.

Aos meus pais, pelos conselhos, paciência, encorajamento e apoio ao longo de todas as fases da minha vida.

Aos meus amigos, que são a família que escolhemos, em particular ao Pedro Vicente à Filipa Gameiro, à Jacinta Baptista e ao André Correia que sempre foram âncoras nas fases menos boas da minha vida e que me ajudaram a não desistir e a crescer.

A todas os farmacêuticos e técnicos da Farmácia Palmeira em Torres Novas, em especial ao Dr. Pedro Lopes e à Dra Raquel Vitorino, pelos conselhos e informação disponibilizada acerca do papel do farmacêutico em farmácia comunitária.

E para finalizar à minha avó Ausenda. Estarás sempre viva na minha memória e no meu coração.

RESUMO

O carcinoma colorectal é uma das neoplasias mais comuns a nível dos países desenvolvidos acarretando elevada morbilidade/mortalidade e elevados custos no seu diagnóstico e tratamento. Estudos apontam que aproximadamente 40% dos pacientes cirurgicamente tratados virão a sofrer de recidivas num espaço de 5 anos. (1)

O diagnóstico precoce constitui um dos aspectos mais importantes para a diminuição da mortalidade associada, o que acentua ainda mais a importância do rastreio. Após o estabelecimento do diagnóstico é importante estabelecer o estadió da doença, o qual se vai relacionar com o tratamento e com o prognóstico do doente. As principais modalidades terapêuticas para este tipo de tumores incluem a cirurgia, a quimioterapia, e a radioterapia para o cancro rectal.

À luz dos actuais paradigmas videntes de tratamento do CCR terem atingido o seu máximo benefício, várias alternativas terapêuticas têm sido objecto de estudo. (1) Os avanços na compreensão do microambiente tumoral, com foco no *cancer immunoediting*, têm despoletado a identificação de alvos terapêuticos para prevenção e/ou tratamento do cancro colorrectal, que incitam tanto o desenvolvimento de novas moléculas como a utilização de moléculas com indicação comum para outras patologias

A Imunoterapia tem revelado benefícios clínicos consideráveis, com resultados comprovados ao nível de várias neoplasias como o cancro do rim, das células pequenas do pulmão e do CRC.

O propósito desta tese visa abordar os diversos aspectos do CCR com particular ênfase no tratamento por Imunoterapia. Neste último ponto serão abordadas as várias estratégias que engloba, bem como a sua relevância clínica.

Palavras-chave: cancro colo-rectal, diagnóstico, tratamento, *cancer immunoediting*, imunoterapia

ABSTRACT

Colorectal cancer is one of the most common malignancies in developed countries with high therapy costs and co-morbidity/co-mortality rates. According to several studies approximately 40% of the surgically cured patients will experience cancer recurrence within 5 years. (1)

Early diagnosis is one of the most important aspects to reduced associated mortality, which emphasize the importance of regular screenings. After the diagnosis it is important to establish the stage of disease which will relate to treatment and the prognosis.

The main therapeutic modalities available for the treatment of CRC include surgery, chemotherapy and radiotherapy for rectal cancer... Current treatment paradigms, with chemotherapy and biologics, appear to have reached their maximum benefit. This fact led to consider new ways to treat CRC.

Advances in the understanding of tumor microenvironment and cancer immunoediting have triggered the identification of therapeutic targets for the prevention and/or treatment of colorectal cancer, inducing both the development of new molecules and the use of molecules with common indication for other pathologies

Immunotherapy has shown considerable clinical benefits as an effective treatment approach in several types of cancer, including non–small cell lung cancer, melanoma and kidney cancer. The significant activity of these agents in various epithelial tumors raises the prospect that the immune system may represent a favorable avenue for advancing the management of patients with CRC.

This work aims to make a general approach to CRC's diagnosis and treatment with focus on Immunotherapy strategies and it's relevant data.

Keywords: colorectal cancer, diagnosis, treatment, cancer immunoediting, immunotherapy

ÍNDICE DE FIGURAS

<u>Figura I:</u> Esquema ilustrativo dos componentes imunoterapêuticos no cancro do colo-rectal, anexo 1.....	16
<u>Figura II:</u> Carcinogénese do CCR, anexo 2.....	22
<u>Figura III:</u> Estratificação do rastreio do CCR em função da história familiar, anexo 7	29
<u>Figura IV:</u> Sistema de classificação <i>TMN</i> , anexo 9.....	34
<u>Figura V:</u> Colectomia direita com anastomose ileocólica, anexo 11	37
<u>Figura VI:</u> Os três E's de <i>cancer immunoediting</i> , anexo 13.....	46
<u>Figura VII:</u> Modos de indução de citotoxicidade pelas células NK, anexo 14	51
<u>Figura VIII:</u> Cascata de adesão leucocitária, anexo 15.....	54
<u>Figura IX:</u> Resposta imunitária mediada por linfócitos via APC, anexo 16	57
<u>Figura X:</u> Cronograma dos avanços mais importantes na Imunoterapia anti- tumoral , anexo 17.....	58
<u>Figura XI:</u> Mecanismo de inibição dos checkpoint's CTLA-4 e PD-1 , anexo 19.....	67

ÍNDICE DE TABELAS

<u>Tabela I:</u> Critérios de Amesterdão, anexo 3	25
<u>Tabela II:</u> Critérios de Amesterdão II, anexo 4	26
<u>Tabela III:</u> Critérios de Bethesda revistos anexo 5	26
<u>Tabela IV:</u> Factores de risco do CCR, anexo 6	26
<u>Tabela V:</u> Rastreio do CCR na população de risco aumentado, anexo 8	29
<u>Tabela VI:</u> Sistema de classificação <i>TMN</i> e definições, anexo 10	34
<u>Tabela VII:</u> Esquemas quimioterapêuticos do CCR e seus efeitos adversos, anexo 12	40
<u>Tabela VIII:</u> Estratégias de vacinação para o CCR, anexo 18.....	64
<u>Tabela IX:</u> Ensaios clínicos de AC's monoclonais como inibidores de checkpoint em CCR, anexo 20	67
<u>Tabela X:</u> Ensaios clínicos em curso de mAc's para CRC, anexo 21	72
<u>Tabela XI:</u> Ensaios clínicos de terapia combinada para inibidores PD1/L1 , anexo 22	73

LISTA DE ABREVIATURAS

17p: Gene da proteína p53
18q: Gene do DCC, SMAD2, SMAD4
5-FU: 5-Fluoruracilo
5q: Gene APC
Ac: Anticorpo
ACE: *Antigénio carcino-embrionário*
ACT: *Adoptive cell transfer*
ADCC: Citotoxicidade celular dependente de anticorpos
ADN: Ácido desoxirribonucleico
AINE: Anti-inflamatório não Esteróide
AJCC: *American Joint Committee on Cancer*
APC: Célula apresentadora de antigénio
ARN: Ácido ribonucleico
BCG: Bacillus Calmette-Guerin
β-hCG: Gonadotrofina coriónica β-humana
BTLA: Atenuador de linfócitos B e T
CAR: *Chimeric Antigen Receptors*
CCR: Cancro Colorectal
CCR7: Receptor de citoquinas tipo 7
CCRHNP: Cancro do Cólon e Recto Hereditário não Associado a Polipose
CCRm: Cancro Colorectal metastásico
CD: *Cluster de diferenciação*
cDC: Célula dendrítica convencional
CDC: Clister Opaco de Duplo Contraste
c-KitR: Receptor da tirosina cinase c-Kit
COOH: Ácido carboxílico
CpGs: Sequências de nucleótidos de citosina-guanina
CTLA-4: Linfócito T citotóxico associado à proteína 4
CU: Colite Ulcerosa
DAMPs: Padrões moleculares associados a perigo
DC: Doença de Crohn
DCC: Gene deletado em cancro colorectal
DCs: Células dendríticas
DII: Doença inflamatória do intestino

dMMR: Deficiência de reparação mismatch
EGF: Factor de crescimento epidérmico
EGFR: Receptor do fator de crescimento epidérmico
ETM: Excisão Total do Mesorecto
EUA: Estados Unidos da America
FCE: Factor de células estaminais
Flt3: Tirosino-quinase 3
GDP: Bifosfato de guanosina
GM-CSF: Factor estimulador de colónias de granulócitos e de macrófagos
GTP: Trifosfato de guanosina
HLA: Antígeno leucocitário humano
I.A.R.C: *International Agency of Research Cancer*
ICAM-1: Molécula de adesão intercelular-1
IFN- γ : Interferão gama
IFN- α : Interferão α
IgG: Imunoglobulina G
IL: Interleucina
IMO: Oligonucleotídeo imunomodulador
IV: Intra-venoso
KIR: *Killer inhibitory receptors*
K-ras: Homólogo Viral do Oncogene do Sarcoma do Rato de Kirsten
LAG-3: Linfócito de ativação de genes 3
LB: Linfócitos B
LFA: Antígeno associado à função de linfócito
LPS: Lipopolissacarídeos
LRR: Repetições ricas em leucina
LT: Linfócitos T
LV: Leucoverina
M1: Macrófagos “classicamente ativados”
M2: Macrófagos “alternativamente ativados”
mAc: Anticorpo monoclonal
MDSC: Células supressoras derivadas da linhagem mieloide
MHC: Complexo major de histocompatibilidade
MIP- 1s: Proteína inflamatória de macrófagos 1s
MMP: Metaloproteinase de matriz
MPO: Mieloperoxidase
MSI-H: Elevada instabilidade de microssatélites

MSI-L: Baixa instabilidade de microssatélites
MSS: Estabilidade de microssatélites
MUC-1: Mucina 1
NDV: Virus da doença de Newcastle
NF-Kb: Factor nuclear κ B
NK: Natural killer
NLR: Rácio de neutrófilos/linfócitos
nTreg: Treg de ocorrência natural
ODN: Oligonucleotídeo
p53: Proteína supressora de tumores 53
PAF: Polipose Adenomatose Familiar
PAR-2: Agonista do receptor ativado por protéases 2
PD-1: Receptor 1 de morte programada
pDC: Célula dendrítica plasmocítica
PDL1/2: Ligantes dos receptores de morte programada
PFS: Sobrevivência livre de progressão
PPAMPs: Padrões moleculares associados a patogénios
PSOF: Pesquisa de Sangue Oculto nas Fezes
RM: Ressonância Magnetica
ROS: Espécies reactivas de oxigénio
S.P.E.D: Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva
SMAD: *Suppressor of Mothers Against Decapentaplegic*
TAA: Antigénio associado ao tumor
TAC: Tomografia Axial Computorizada
TAM: Macrófagos associados a tumores
TC: T citotóxica
TCR: Receptor do linfócito T
TGF- β : Factor de transformação do crescimento β
TGI: Tracto gastrointestinal
TH: T *helper*
TIL: Linfócito infiltrante de tumor
TIM-3: Domínio de mucina e imunoglobulina de célula T
TIR: Receptor *Toll*/Interleucina-1
TLR: Receptor *Toll-like*
TNF α : Factor de necrose tumoral α
TNM: Tumor, Nódulos, Metástases
Treg: T reguladoras

TUMAP: Péptido associado ao tumor

VEGF: Factor de crescimento endotelial vascular

VGFR: Receptor do factor de crescimento endotelial vascular

WT1: Antigénio tumoral de Wilms

ÍNDICE

DEDICATÓRIA	3
AGRADECIMENTOS	4
RESUMO.....	5
ABSTRACT	6
ÍNDICE DE FIGURAS	7
ÍNDICE DE TABELAS	8
LISTA DE ABREVIATURAS.....	9
I. INTRODUÇÃO	15
II. MATERIAL E MÉTODOS	17
III. VISÃO GERAL DO CANCRO COLO-RECTAL.....	18
3.1. Epidemiologia e Carcinogénese.....	18
Prevenção primária e factores de risco.....	22
3.3. Prevenção secundária	27
3.4. Manifestações clínicas e Diagnóstico.....	30
3.5. Estadiamento.....	32
3.6. Terapêuticas Convencionais.....	35
3.6.1 Cirurgia	35
3.6.2 Terapêutica adjuvante e neo-adjuvante	37
3.6.2.1 Cólon.....	37
3.6.2.2 Recto.....	41
3.6.3 Terapêutica da doença irresssecável	42
3.7. Prognóstico e Follow up.....	42
IV. IMUNOLOGIA.....	45
4.1. O sistema imunitário	45
4.1.1 Imunidade Inata	47
4.1.1.1 Células apresentadoras de antígenos	47
4.1.1.2 Macrófagos.....	48
4.1.1.3 Mastócitos	49
4.1.1.4 Células <i>natural killer</i>	50
4.1.1.1 Células dendríticas	51
4.1.1.1 Neutrófilos	53

4.1.2	Imunidade Adquirida	54
4.1.2.1	Linfócitos B	54
4.1.2.2	Linfócitos T	55
4.2.	Imunoterapia.....	57
4.2.1	Vacinas	58
4.2.1.1	Vacinas autólogas	58
4.2.1.2	Vacinas à base de péptidos.....	60
4.2.1.3	Vacinas de células dendríticas.....	62
4.2.1.4	Vacinas à base de antígenos virais/ bacterianos	63
4.2.2	Inibidores <i>checkpoint</i>	64
4.2.2.1	CTLA-4.....	65
4.2.2.1	PD-1	65
4.2.3	Terapêutica por citocinas	68
4.2.4	Agonistas TLR	68
4.2.5	Terapêutica por ACT.....	70
4.2.6	Terapêutica por anticorpos monoclonais.....	71
4.2.7	Terapêutica combinada	72
V.	CONCLUSÃO	74
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
	ANEXOS	88

I - INTRODUÇÃO

O Cancro Colorectal (CCR) é o quarto mais frequente cancro a nível mundial e o segundo mais mortal. Responsável por cerca de 1.4 milhões de novos casos/ano e cerca de 700.000 mortes em 2012. (2) Em Portugal é o segundo cancro mais frequente, depois do cancro do pulmão, com 5000 novos casos por ano.(3) Estima-se que em 2030, a nível mundial, surjam 2.2 milhões de novos casos e 1.1 milhões de mortes. (2)

A maioria dos cancros colorectais é considerada esporádica, apesar de um componente familiar presente em 15 a 30% dos casos.(4) Para além da história familiar existem outros factores de risco de desenvolvimento deste tipo de tumor nomeadamente, idade avançada, dieta rica em gorduras, sedentarismo e doença inflamatória. (5)

Vários factores têm sido identificados como protectores para o desenvolvimento do CCR, entre os quais, dieta rica em frutas e vegetais, actividade física regular, uso regular de aspirina ou anti-inflamatórios não-esteróides e terapia hormonal de substituição em mulheres pós-menopausa. (6) Muitos cancros colorectais podem ser prevenidos pela implementação de planos de rastreio universais.

A maioria dos CCR iniciam-se como adenomas que sofrem mutações adicionais para se transformarem em carcinomas invasivos, sendo que 90% destes são adenocarcinomas. (7) A maioria dos doentes com CCR sintomático pode apresentar-se com hematoquézias, melenas, dor abdominal, anemia ferropénica e/ou alterações do trânsito intestinal. Os primeiros sinais de CCR podem também ser determinados pela metastização à distância. (8)

Os CCR são estadiados patologicamente após cirurgia, usando o sistema de estadiamento TNM da American Joint Committee on Cancer (AJCC). (9)

As principais opções terapêuticas do CCR incluem a cirurgia, a quimioterapia e a radioterapia para o cancro do recto. (10) Do total de pacientes diagnosticados com CCR mais de 50% desenvolvem metástases e dessa percentagem aproximadamente

90% são irresssecáveis. (11) A abordagem dos doentes com CCR metastizado (CCRM) tem evoluído nos últimos tempos, no entanto a quase totalidade destes pacientes desenvolve resistência às principais modalidades de tratamento. (12)

O sistema imunitário desempenha um intrincado e complexo papel em todos os aspectos relacionados com o cancro, desde a carcinogénese ao tratamento.(13) Nas últimas duas décadas inúmeros progressos têm sido feitos nesta área (figura I).

A Imunoterapia tem revelado benefícios clínicos consideráveis com resultados comprovados ao nível de várias neoplasias, como o cancro do rim, das células pequenas do pulmão e do melanoma.(10) Torna-se assim imperativo integrar estratégias alternativas, com destaque na imunoterapia, que visem melhorar o prognóstico dos pacientes com CRCm. Várias abordagens nesta área têm sido exploradas; é o caso das vacinas, dos inibidores de checkpoint, das citocinas, dos receptores *Toll-like*, da terapêutica ACT, da terapêutica por anticorpos monoclonais e da terapêutica combinada.(14,15) .

Este trabalho propõe-se a abordar as várias estratégias de Imunoterapia empregues no combate ao CRC, com foco nos resultados obtidos de vários estudos e futura integração ao nível das terapêuticas já existentes.

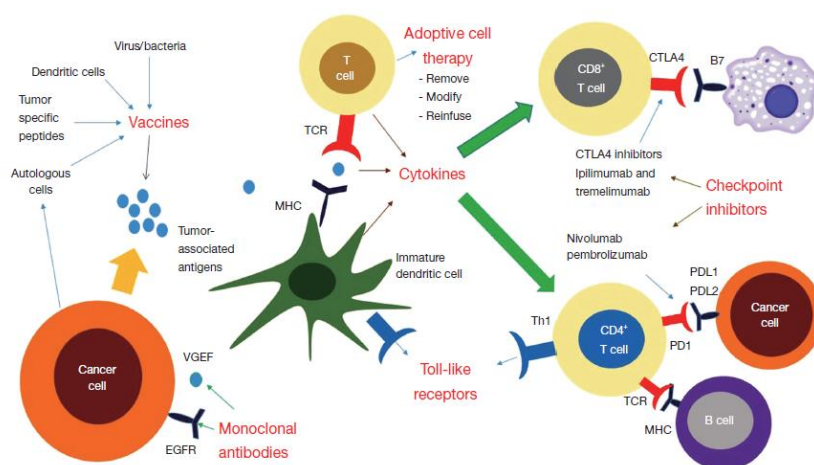


Figura I - Componentes imunoterapêuticos no cancro colorectal, anexo 1

II - MATERIAL E MÉTODOS

Uma vez escolhido o tema para esta tese de mestrado, foi efectuada uma pesquisa bibliográfica entre Maio de 2017 e Novembro de 2017. Realizou-se a pesquisa através dos sítios Pubmed, Medscape e WHO utilizando e combinando os “mesh terms” de “cancer”, “colorectal”, “epidemiology”, “theraphy”, “screening”, “guidelines”, “immunotherapy”, “immuno”. Dos artigos pesquisados foram seleccionados os mais recentes e editados por instituições/autores de mérito internacional. Foram excluídos todos os artigos com data de publicação anterior a 1997 e limitando a busca a artigos escritos em inglês e português.

Também se utilizaram alguns livros na elaboração desta tese, tendo-se efectuado a pesquisa na biblioteca da Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa e na biblioteca da da Faculdade de Ciências Médicas da Universidade Nova de Lisboa. Esta tese não segue as normas do novo acordo ortográfico.

III – VISÃO GERAL DO CANCRO COLO-RECTAL

3.1. Epidemiologia e Carcinogénese

O cancro colorectal (CCR) é o quarto mais frequente cancro a nível mundial e o segundo mais mortal. Responsável por cerca de 1.4 milhões de novos casos/ano e cerca de 700.000 mortes em 2012. (2) Dados do relatório GLOBOCAN 2012 da IARC (International Agency of Research Cancer) revelam que é o terceiro mais comum em homens (746.000 casos, 10% do total) e o segundo nas mulheres (614.000, 9.2% dos casos). (2) O CCR é responsável por cerca de 11% das neoplasias malignas nos EUA, com uma estimativa de aproximadamente 147.000 novos casos ano.(16). Na Europa os dados revelam que afecta anualmente cerca de 17 em cada 100.000 habitantes. (17)

Em Portugal é o segundo cancro mais frequente, depois do cancro do pulmão, com 5000 novos casos por ano, com igual incidência em ambos os sexos. (3,18) A Incidência do CCR apresenta assim uma grande variabilidade consoante a região geográfica, com as taxas de incidência mais elevadas registadas nos EUA, Austrália e Nova Zelândia. (2)

A incidência e mortalidade por CCR aumentam com a idade, sabendo-se que cerca de 90% dos casos são diagnosticados após os 50 anos de idade (idade média de diagnóstico 70 anos).(18) Afecta ambos os sexos de forma semelhante, embora o cancro rectal seja mais frequente nos homens. (18) Nos países de elevada incidência o risco individual de desenvolver CCR ao longo da vida é de 6%. (19) Como a incidência aumenta com a idade é expectável que a incidência de CCR aumente com o aumento da esperança média de vida.

O cancro colorectal tem origem numa complexa interacção entre factores ambientais, genéticos e moleculares que ocorrem ao longo do tempo e que levam à evolução da mucosa normal. (20). A maioria dos CCRs, tanto esporádicos como hereditários, desenvolve-se a partir de lesões precursoras, os adenomas, seguindo a

via de carcinogénese adenoma-carcinoma. (20) Esta evolução decorre de forma lenta ao longo de 10 anos, excepto nos indivíduos com carcinoma do cólon e recto hereditário não associado a polipose (síndrome de Lynch), nos quais esta progressão pode ser mais rápida. (21) Os adenomas devem ser distinguidos dos pólipos juvenis, hamartomas e pólipos inflamatórios que não representem lesões pré-malignas. (22)

A nível molecular são definidos duas grandes vias de carcinogénese, a via supressora e a via mutadora. (23) A via supressora ocorre através da inactivação de genes supressores tumorais e admite-se ser responsável pela maioria dos tumores esporádicos e da polipose adenomatosa familiar do cólon. (23) A via mutadora ocorre através de mutações em sequências repetitivas de ADN, denominadas microssatélites, e é a via responsável pela síndrome de Lynch e por cerca de 15% dos tumores esporádicos, especialmente se localizados no cólon direito. (24,25) O papel do adenoma está bem estabelecido na via supressora, mas foi também assumido como a lesão precursora do CCR, com instabilidade de microssatélites de alto grau, mais frequente no cólon direito. (24,25).

Na via supressora, responsável por 70-85% dos CCRs esporádicos, a lesão mais precocemente identificada é a cripta aberrante que antecede a formação do pólipo. (26) Esta via encontra-se associada à mutação dos genes 5q, K-ras, 18q e à deleção do gene 17p. Todas estas alterações em simultâneo raramente estão presentes nos CCRs que se formam por esta via (26).

O 5q, ou gene APC, é um gene de grandes dimensões cuja mutação interfere na ligação com a b-catenina, a qual constitui um passo importante na via de sinalização Wnt. (27) Esta via actua ao nível da regulação do crescimento, apoptose e diferenciação celular. (27) Todas as mutações que ocorrem no gene APC e alteram a ligação APC-b-catenina resultam numa diminuição da degradação normal da b-catenina e originam uma constante activação da via de sinalização Wnt. (27) A perda funcional do APC também interfere com a regulação mitótica (28). Durante a metáfase existe uma

organização cuidadosa dos cromatídeos irmãos, de modo a que seja garantida uma distribuição correcta às futuras células.(29) A kinetocore coordena a organização da cromatina, assegurando uma distribuição sem erros durante a divisão celular. (29) O APC é uma proteína que tem a capacidade de se ligar ao kinetocore promovendo um correcto alinhamento cromossómico e subsequente segregação dos cromossomas. (29)

As células que apresentam deficiência de APC não têm a capacidade de detectar anormalidades cromossómicas durante a metáfase, entrando na anáfase com o potencial de gerar instabilidade cromossómica (29). A mutação do gene APC está presente em 60% dos cancros do cólon e 82% dos cancros rectais. (22)

O gene K-ras é um proto-oncogene importante para a transdução e sinalização intracelular que controla a proliferação celular (30). A proteína K-ras está localizada na superfície interna da membrana celular e encontra-se ligada à GTP na sua conformação activa (30). A hidrólise do GTP para GDP torna-o inactivo (30). As mutações dos mediadores a jusante do gene k-ras levam a uma diminuição da actividade da GTPase, resultando em um K-ras constantemente activo (30). Mutações deste gene são encontradas em 35% a 42% dos CCRs. (31)

Os genes DCC, o SMAD2 e o SMAD4 estão localizados no cromossoma 18 e a sua perda alélica verifica-se em 60% do CCRs (30,32). O SMAD2 e o SMAD4 regulam a via de sinalização b-TGF que controla o crescimento celular e a apoptose. O DCC codifica um receptor transmembranar que promove a apoptose. (30,32)

A perda de funcionalidade da proteína p53 deve-se a deleções do braço curto do cromossoma 17, marcando a transição da doença pré-invasiva para doença invasiva (30,31). Vários estudos demonstram que, à medida que a doença vai progredindo, existe um aumento na frequência das anormalidades p53 (31). Essas anormalidades são encontradas em 4% a 26% dos adenomas, 50% dos adenomas com focos invasivos e 50% a 75% dos CCRs (31). A proteína p53 é um importante factor de transcrição, que actua na expressão de genes retardadores do ciclo celular (30). Este regulador impede

a entrada das células na fase S do do ciclo celular permitindo, caso haja dano do ADN, que este seja reparado (31). Quando os danos a nível do ADN são demasiado extensos para serem reparados o p53 induz a expressão de genes apoptóticos(34).

A via mutadora, também designada de instabilidade de microsatélites, é outro dos mecanismos principais de ocorrência de CCR (23). Aproximadamente 20% dos CCRs exibem este fenótipo, em que existe uma disparidade no sistema de reparação do ADN pela ADN polimerase durante a replicação.(35) Este sistema é constituído por 7 proteínas, hMLH1, hMLH3, hMSH2, hMSH3, hMSH6, hPMS1 e o hPMS2 que ao se associarem formam heterodímeros funcionais (35). O hMLH1 e o hPMS2 são os componentes essenciais deste sistema de reparação e formam 5 proteínas heterodiméricas funcionais: hMSH2-hMSH3, hMSH2-hMSH6, hMLH1-hPMS1, hMLH1-hPMS2 e hMLH1-hMLH3 (35). A instabilidade microsatélite elevada (MSI-H) ocorre quando existem, pelo menos, duas alterações dentro das 5 proteínas descritas anteriormente. (35) Na instabilidade microsatélite baixa (MSI-L), apenas uma das 5 proteínas se encontra alterada. (35)

A metilação do ADN, ou via serrada, é outra das vias de regulação genética.(24) Estudos comprovam que na maioria dos CCRs ocorre hipometilação global do genoma, principalmente nas sequências de ADN repetitivas e, simultaneamente, existe uma hipermetilação da região promotora de alguns genes.(36) Este facto traduz-se no aumento da probabilidade de ocorrência de um erro, numa determinada sequência de ADN, durante o processo de transcrição. (36)

Na figura II, está retratada, de forma resumida, os eventos que ocorrem na carcinogénese do CCR

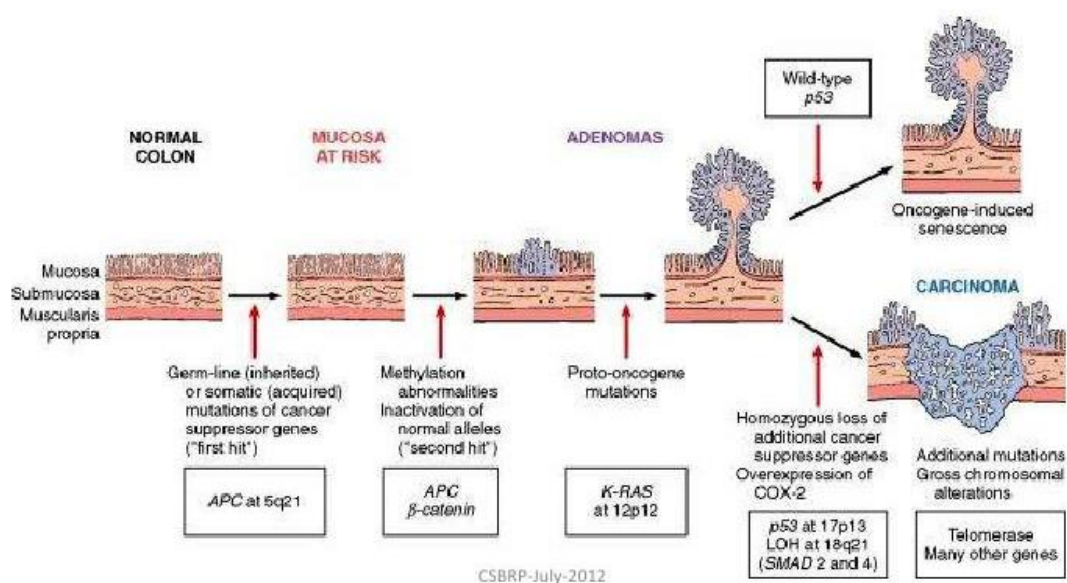


Figura II- Carcinogênese do CCR, anexo 2

3.2. Prevenção primária e factores de risco

Estão identificados inúmeros factores que se associam a um risco aumentado ou diminuído de desenvolvimento de CCR. (37) Como já foi referido, na etiopatogenia do CCR estão implicados factores ambientais, nomeadamente nutricionais e de estilo de vida. Estes factores uma vez modificados levam à diminuição do risco de desenvolvimento de CCR, actuando ao nível da prevenção primária. (37)

A ingestão calórica elevada e o sedentarismo, observados em países economicamente mais desenvolvidos, têm sido apontados como factores de risco.(38) Estudos caso-controlo têm demonstrado uma associação positiva entre a ingestão calórica, o consumo de gordura e o risco de CCR (52-55). Por outro lado, numerosos estudos têm demonstrado uma associação inversa entre o consumo de legumes e o risco de CCR, sendo a associação com o consumo de frutos menos evidente. (61-64) Relativamente ao consumo de carne tem sido sugerido que a carne vermelha se associa a um risco mais elevado de CCR. (39) Alguns estudos apontam para um aumento significativo de CCR com o consumo de pelo menos 160 mg/dia de carne.(40)

Em relação ao papel dos micronutrientes estudos comprovam um efeito protector por parte do cálcio, do ácido fólico, da metionina, dos retinóides, carotenóides, ácido ascórbico, a-tocoferol e selénio.(41–43) De referir igualmente o efeito potector da ingestão de fibra.(44)

Cerca de 1/3 dos CCR têm subjacente à sua etiologia a obesidade e o álcool. (38) Estudos realizados comprovam um aumento do risco de CCR, sobretudo do carcinoma rectal, em individuos de ambos os sexos relacionados com ocupações laborais mais sedentárias. (38) O excesso de peso e a obesidade estão intrinsecamente ligados a um aumento do risco de CCR, sendo maior a evidência no homens. (46) Essas diferenças podem dever-se à tendência da adiposidade masculina ser do tipo visceral.(46)

O consumo de álcool é outro dos factores de risco do CCR. Está provado que um consumo de álcool superior a 45g/dia aumenta o risco de CCR. (47) O acetaldeído, resultante da oxidação do álcool, diminui a quantidade de folato presente no cólon resultando numa maior predisposição à doença. (48).

Embora não esteja directamente exposto ao tabaco, hábitos tabágicos contribuem para o desenvolvimento de adenomas e consequentemente um maior risco de desenvolver CCR. (49)

Os pacientes com diabetes mellitus, sobretudo do tipo II, apresentam um maior risco de CCR por hiperinsulinémia.(50) A actividade física regular reduz a necessidade de o organismo produzir insulina por aumento da sensibilidade a esta hormona. (51)

A actividade desportiva contribui para o aumento da motilidade intestinal. A obstipação constitui um factor de risco para o CCR, uma vez que a presença de uma motilidade intestinal diminuida permite o prolongamento do tempo de contacto dos produtos carcinogénicos com a superficie intestinal, aumentando a probabilidade de desenvolvimento de CCR.(52)

A incidência e mortalidade por CCR aumenta com a idade, sabendo-se que cerca de 90% dos casos são diagnosticados após os 50 anos de idade (idade média de diagnóstico 70 anos) (18). De referir que só 12% dos CCR são diagnosticados após os 80 anos.(53)

Antecedentes pessoais de pólipos, doença inflamatória do cólon e história familiar de CCR são outros dos factores de risco de desenvolvimento da patologia. O risco do CCR encontra-se aumentado quando existem antecedentes pessoais de pólipos adenomatosos (54) Quanto maior for o número e o tamanho dos pólipos existentes, mais elevado é o risco de desenvolver CCR. (54) Todos os pacientes a quem foi diagnosticado um CCR apresentam um risco aumentado de vir a padecer de um segundo, principalmente quando o CCR é diagnosticado com idade inferior a 60 anos.(55).

A doença inflamatória intestinal (DII) é outra das condições em que há maior incidência de CCR. Na doença de Crohn, (DC), o risco de CCR encontra-se aumentado 2 a 5 vezes, quando comparado com a população geral.(56). Na colite ulcerosa, (CU), o risco de desenvolver CCR após a quarta década de evolução da patologia aumenta 1% ao ano.(57)

Ao nível da história familiar de CCR existe um risco considerável em dois síndromes de herança dominante, a polipose adenomatosa familiar (PAF) e o carcinoma cólon rectal hereditário não associado a polipose (CCRHNP) (58). A componente familiar representa 15 a 30% dos casos de CCR.(4).

A PAF tem herança autossómica dominante e caracteriza-se pelo desenvolvimento de numerosos pólipos adenomatosos.(59) É responsável por cerca de 1% de todos os casos de CCR e está associada à mutação germinativa do gene APC no cromossoma 5q21. (59,60) A maioria destes pacientes, mais de 90%, aos 35 anos já apresenta pólipos. (59) Actualmente, já é possível realizar testes genéticos que identificam a mutação do gene APC e permitem um diagnóstico antes do

desenvolvimento dos pólipos, devendo os indivíduos com história familiar de PAF serem orientados para a realização dos mesmos.(59,60). A colectomia previne a evolução para CCR a médio prazo.(59)

A CCRHNP, tal como a PAF, tem herança autossómica dominante.(21) Na sua origem estão mutações germinativas do ADN, mismatch repair genes (MSH2, MLH1, MSH6, PMS1, PMS2) e cerca de 90% apresentam instabilidade de microssatélites.(62)

Caracteriza-se pela história familiar de pelo menos três parentes com a doença diagnosticada (sendo um deles familiar em primeiro grau dos outros), um ou mais casos de CCR na família antes dos 50 anos e, pelo menos, duas gerações afectadas pela patologia.(62,63) Estes critérios foram definidos inicialmente como critérios clínicos do CCRHNP, denominados de critérios de Amesterdão (tabela I) e, posteriormente modificados para contemplarem tumores extra-cólicos associados e definidos como critérios de Amesterdão II (tabela II). (64) Após se terem identificado as mutações responsáveis pelo CCRHNP percebeu-se que os critérios de Amesterdão eram demasiado restritivos para a identificação desta síndrome, uma vez que se encontravam famílias portadoras do defeito genético que não preenchiam esses critérios clínicos. (65) Consequentemente foram definidos outros critérios de forma a seleccionar indivíduos com elevada probabilidade de serem portadores de uma das mutações - os critérios de Bethesda (tabela 3). (65) Os pacientes que padecem desta patologia, também designada de síndrome de Lynch, apresentam um pico de incidência do CCR entre os 40 e os 50 anos. (21)

Tabela I- Critérios de Amesterdão, anexo 3

Critérios de Amesterdão

Pelo menos 3 familiares com CCR e todos os critérios seguintes:

- um doente afectado é parente de 1º grau dos outros dois
- estão afectadas 2 ou mais gerações sucessivas
- pelo menos um doente com CCR, diagnosticado antes dos 50 anos
- exclusão de PAF-C
- confirmação histológica dos tumores

Tabela II- Critérios de Amesterdão II, anexo 4**Critérios de Amesterdão modificados – inclui tumores extra-cólicos associados**

Pelo menos 3 familiares com tumores do espectro do CCHNP* e todos os critérios seguintes:

- um doente afectado é parente de 1º grau dos outros dois
- estão afectadas 2 ou mais gerações sucessivas
- pelo menos um doente com cancro diagnosticado antes dos 50 anos
- excluída PAF-C em qualquer dos doentes com CCR
- confirmação histológica dos tumores

* Tumores associados ao espectro do CCHNP e contemplados nestes critérios: CCR, carcinomas do endométrio, intestino delgado, uretero e pélvis renal.

Tabela III- Critérios de Bethesda revistos, anexo 5**QUADRO 6 – CRITÉRIOS DE BETHESDA REVISTOS**

1. Indivíduos com CCR diagnosticado em idade inferior a 50 anos
2. Indivíduos com CCR síncronos ou metacrónicos, ou associação com outros tumores do espectro do CCHNP*, independentemente da idade
3. Indivíduos com CCR com características histológicas de instabilidade de alto grau**, diagnosticado em idade inferior a 60 anos
4. Indivíduos com CCR e um ou mais familiares de 1º grau com um tumor do espectro do CCHNP*, um dos quais diagnosticado em idade inferior a 50 anos
5. Indivíduos com CCR e dois ou mais familiares de 1º ou 2º grau com tumor do espectro do CCHNP*, independente da idade

* Tumores associados ao espectro do CCHNP incluem: CCR, carcinomas do endométrio, ovário, intestino delgado, vias biliares, pâncreas, uretero e pélvis renal, estômago, tumores do cérebro (glioblastomas) e cutâneos (adenomas ou carcinomas de glândulas sebáceas e queratoacantomas).

** infiltrado linfocitário, reacção Crohn-like, tumores mucinosos ou com diferenciação em "anel de sinete" ou padrão de crescimento medular

Vários estudos constataam que indivíduos que consomem regularmente AINEs, nomeadamente a aspirina, apresentam uma menor incidência de adenomas e CCR.(66).Os AINEs regulam a normalidade do mecanismo de apoptose ao nível do epitélio do cólon, prevenindo a proliferação celular descontrolada (66)

Na tabela IV estão patentes, de forma resumida, os factores que se associam a um risco aumentado ou diminuído de desenvolvimento de CCR.

Tabela IV- Factores de risco do CCR, anexo 6

Risco médio ou padrão	Idade > 50 anos
Risco diminuído	<ul style="list-style-type: none"> • Elevado consumo de vegetais • Uso de contraceptivos orais • Terapêutica hormonal substituição • Multivitaminas / ácido fólico • Uso continuado de aspirina e anti-inflamatórios não esteroides
Risco aumentado	<ul style="list-style-type: none"> • História familiar de CCR • História familiar de adenomas do cólon e recto • História pessoal de adenomas do cólon e recto • História pessoal de neoplasia do ovário e endométrio • Polipose adenomatosa familiar • Polipose associada a mutação no gene MYH • Carcinoma do cólon e recto hereditário não associado a polipose • Síndrome da polipose hiperplásica • Síndrome de Peutz-Jeghers • Polipose juvenil • Doença inflamatória do intestino • Inactividade física (< 3 horas exercício físico / semana) • Obesidade • Tabagismo • Alcool

3.3. Prevenção Secundária

O CCR é uma patologia com uma elevada morbiliade e mortalidade (2). Cararacteriza-se por apresentar um quadro de de oncogénese relativamente longo (5 a 10 anos) e existência de lesões precursoras benignas que possibilitam uma terapêutica antes do desenvolvimento de uma neoplasia maligna, contribuindo deste modo para a elevação das taxas de cura.(67,68)

O rastreio pode ser dividido em dois grupos: o da população em geral (grupo de baixo risco) e o dos individuos com maior risco (com história familiar de CCR ou pessoal de pólipos adenomatosos colorectais ou de DII). (60)

Os principais exames complementares aplicados ao rastreio são a pesquisa de sangue oculto nas fezes (PSOF), a sigmoidoscopia flexivel, o clister opaco com duplo contraste, a colonografia TC e a colonoscopia.(16). Para individuos com mais de 50 anos sem factores de risco, recomenda-se a realização anual do PSOF e/ou uma sigmoidoscopia flexivel a cada 5 anos ou um clister opaco com duplo contraste a cada 5 anos ou uma colonoscopia de 10 em 10 anos. (16) O toque rectal deve também ser feito em individuos com idade superior a 40 anos.(58)

Os individuos com história familiar de CCR constituem um grupo de risco elevado (31). Para os doentes com um parente de primeiro grau a quem foi diagnosticada a doença antes dos 45 anos ou com dois familiares em primeiro grau afectados, o risco de desenvolver esta neoplasia sobe para 1 em cada 10 individuos.(58) A estes pacientes deve ser recomendado o rastreio com endoscopia baixa a iniciar numa idade 10 anos inferior à do familiar afectado quando foi diagnosticado.(58)

A PAF e a CCRHNP sao duas condições hereditárias que colocam o paciente num grupo de alto risco (31). A PAF caracteriza-se pelo desenvolvimento de múltiplos pólipos adenomatosos intestinais, podendo estes associarem-se a manifestacoes extra-intestinais: cistos epidermoides, tumores desmoides abdominais, osteomas, tumores

cerebrais.(58) Para estes indivíduos está indicada a vigilância com sigmoidoscopia flexível anual até aos 35 anos e caso sejam detectados pólipos deverão ser referenciados para a cirurgia.(58)

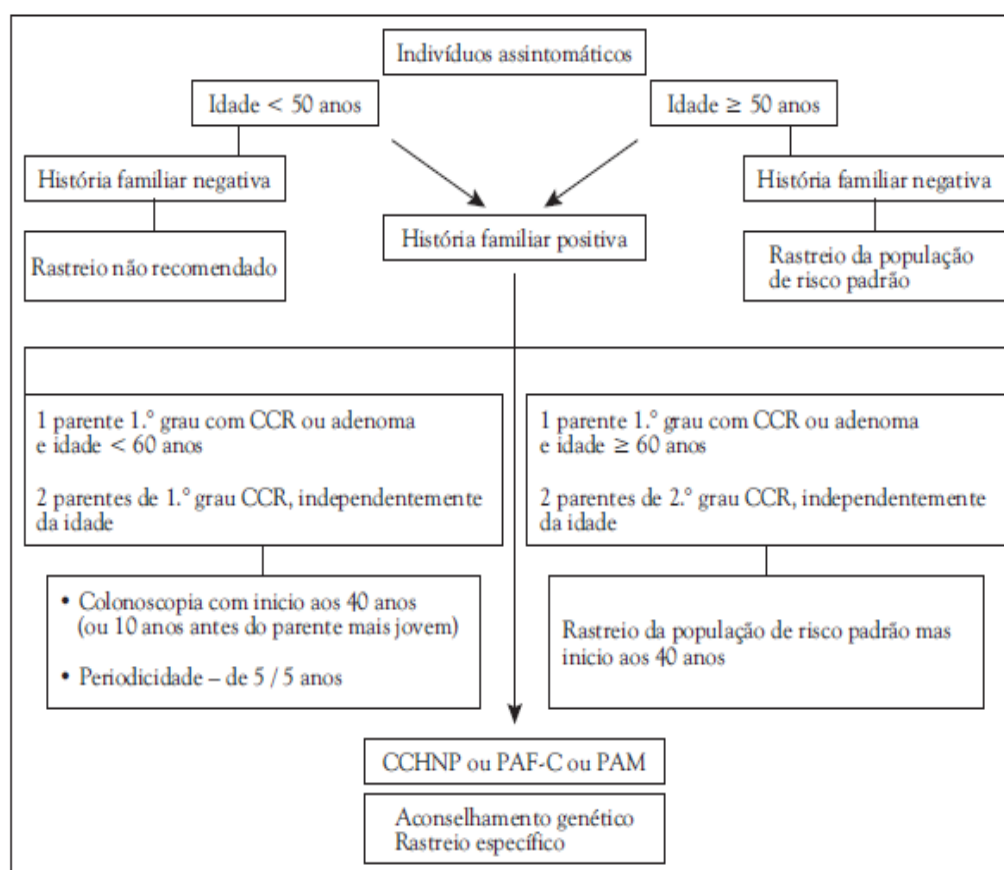
No que se refere ao CCRHNP, os tumores localizam-se preferencialmente no cólon proximal e desenvolvem-se frequentemente carcinomas metácrónos e síncronos. (62,63) Estes tumores podem associar-se a outras neoplasias em indivíduos jovens (endométrio, ovário, estômago, cérebro, pele). (62,63)

Aos portadores da mutação genética para o síndrome de Lynch é recomendada a realização de uma colonoscopia anual ou bianual, a partir dos 20-25 anos (60,61). De referir que estes tumores se associam frequentemente ao carcinoma do ovário e do endométrio, ao que também é recomendado a realização de uma ecografia endovaginal semestralmente e biópsia do endométrio.(61)

Os indivíduos com antecedentes de pólipos adenomatosos tratados com polipectomia têm um risco superior ao da população para desenvolver outros adenomas (30 a 50%) e CCR, estando recomendada a vigilância com colonoscopia de três em três anos.(31)

Os doentes com doença inflamatória intestinal têm também maior predisposição para CCR e indicação para uma vigilância mais periódica.(58) A partir de 10 anos de evolução da doença, os pacientes devem realizar colonoscopia com biópsia da mucosa a cada três anos(31). A partir dos 20 anos de evolução de DII é recomendada fazê-lo anualmente. (31) Se uma displasia de alto grau for detectada, está indicada a colectomia dado o risco de progressão para CCR invasivo.(31)

A estratificação do risco de CCR e as recomendações anteriormente propostas encontram-se resumidas na figura III, de acordo com as recomendações publicadas pela Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva (S.P.E.D.).(58) Na tabela V estão presentes, de forma resumida, as guidelines de rastreio de CCR na população de risco aumentado segundo a S.P.E.D. e a sociedade americana de gastroenterologia. (71)



CCR – Carcinoma do cólon e recto
 CCHNP – Carcinoma do cólon e recto hereditário não associado a polipose
 PAF-C – Polipose adenomatosa familiar do cólon
 PAM – Polipose associada ao gene MYH

Figura III- Estratificação do rastreio do CCR em função da história familiar, anexo 7

Tabela V- Rastreio do CCR na população de risco aumentado, anexo 8

Grupo I	Grupo II
1 parente de 1.º grau com CCR ou adenoma, idade < 60 anos 2 parentes de 1.º grau com CCR, independente da idade	1 parente de 1.º grau com CCR ou adenoma e idade > 60 anos 2 parentes de 2.º grau com CCR, independente da idade
<ul style="list-style-type: none"> • Colonoscopia com início aos 40 anos (ou 10 anos antes parente mais jovem) • Periodicidade – de 5/5 anos 	<ul style="list-style-type: none"> • Rastreio = População de risco padrão • Início aos 40 anos

Adaptado das recomendações da Sociedade Portuguesa de Endoscopia Digestiva (88) e da Sociedade Americana de Gastroenterologia (86)

* Parentes de 1.º grau – pais, irmãos ou filhos

** Parentes de 2.º grau – avós, tios maternos e paternos

3.4. Manifestações clínicas e Diagnóstico

Dada a sua etiopatogenia, os sinais e sintomas do CCR tendem a surgir em estadios avançados da doença e estão dependentes da localização e tamanho do tumor. (58) Dentro dos sintomas que o caracterizam temos as alterações do trânsito intestinal, as perdas hemáticas, a dor abdominal, o emagrecimento, anorexia e astenia.(69)

Os tumores do cego, cólon ascendente e cólon transversal proximal podem causar perda hemática crónica que, conjuntamente com a anemia ferropénica se traduzem em sintomas de fadiga, angina de peito e palpitações. (58) A anemia ferropénica é uma das formas de apresentação de CCR, sobretudo em indivíduos de idade superior a 50 anos. (60) O maior diâmetro do cólon direito e o facto de as fezes serem líquidas faz com que os tumores cresçam sem darem sintomatologia, podendo atingir grandes dimensões.(58) Os tumores com origem no cólon transversal distal, descendente e sigmóide podem associar-se a dor abdominal, obstrução intestinal e perfuração (60). Reportando aos tumores do recto estes podem manifestar-se por tenesmo, alterações do calibre das fezes e hematoquézia.(58,60)

A PSOF é um método de diagnóstico não invasivo e relativamente simples.(68) Apresenta algumas limitações, como a baixa sensibilidade e a não detecção da origem da perda hemática.(68) Como a hemorragia pode ser intermitente, a PSOF poderá ser negativa em 50% dos doentes com CCR. (60) Nos casos de PSOF positiva, o doente deverá ser submetido a um estudo com sigmoidoscopia, clister opaco e/ou colonoscopia.(58,60)

O estudo por métodos de endoscopia permite a localização do tumor, a identificação de outras neoplasias síncronas e a realização de biopsias para a caracterização histopatológica de lesões suspeitas. (58,70) Permite aliar o diagnóstico à terapêutica possibilitando a polipectomia em simultâneo.(70)

A sigmoidoscopia é um método endoscópico utilizado no diagnóstico de CCR, permitindo a visualização do cólon até 60 cm. (58) Não permite, no entanto, o estudo da parte proximal do intestino grosso.(68)

A colonoscopia é o exame que permite um estudo completo do cólon.(60) Cerca de 10% dos tumores têm neoplasias síncronas, o que implica um estudo completo do cólon e o torna no exame de referência no diagnóstico de CCR.(68) Quando a lesão é estenosante e não permite a passagem do colonoscópio, o clister opaco com duplo contraste, (CDC), pode ser uma alternativa na identificação do tumor.(60) No entanto não permite a caracterização histológica da lesão e é menos sensível do que a colonoscopia. (68,70) A sua sensibilidade aumenta consoante o tamanho do tumor, em especial > 10 mm.(60,68)

A colonoscopia virtual é, a par do CDC, um outro método radiológico de diagnóstico não invasivo.(68) Permite visualizar as paredes do cólon com uma sensibilidade de cerca de 90% para lesões superiores a 1cm, mas não permite a obtenção de uma biopsia.(68)

Outro tipo de teste diagnóstico mais recente consiste na colheita de uma amostra de muco rectal (ColorectAlert) (68). As células epiteliais do intestino grosso segregam várias mucinas que durante a carcinogénese se alteram.(68) A expressão de mucinas inapropriadas pode ser uma potencial marca de CCR (68). Baseia-se na identificação de um açúcar, a dissacaríase-acetil-galactosamina, e apresenta menos resultados falso-positivos quando comparado ao PSOF. (68)

O antigénio carcinoembrionário (ACE) é o marcador tumoral mais comum para o CCR.(71) Actualmente, na Europa, as guidelines indicam a sua utilização apenas no follow-up dos doentes submetidos a cirurgia, como forma de detectar precocemente recorrências.(68,71) Apresenta como limitação uma alta taxa de falsos negativos.(71)

3.5 Estadiamento

Após o estabelecimento do diagnóstico é importante determinar a extensão da doença quer localmente, quer à distância.(60) A Tomografia Computorizada, (TAC), do abdômen e da pélvis e a radiografia ao tórax são, geralmente, métodos usados para a avaliação das metástases à distância. (72) A extensão local do cancro rectal para os tecidos moles adjacentes pode ser avaliada através de Ressonância Magnética (RM) pélvica e da ecografia endorectal (72).Caso existam sintomas dirigidos, nomeadamente dor óssea em qualquer localização, deve-se proceder a uma avaliação radiológica para excluir possíveis metástases ósseas.(73) O estadiamento pode ser clínico ou patológico. (74)

Apesar de existirem vários sistemas o *Tumour-node-metastasis* (TNM), definido pelo *American Joint Committee on Cancer*, (AJCC), é o mais utilizado para o estadiamento do CCR (figura IV) (74–76). O T representa a profundidade da penetração do tumor,o N define o grau de comprometimento dos gânglios linfáticos e o M a presença de metástases à distância.(58,74)

O estadio I (T1-T2, N0, M0) define um tumor que invade apenas a submucosa (T1) ou a muscular própria (T2), sem comprometimento de gânglios regionais. (77) Os tumores que penetram através da muscular própria (T3), perfuram o peritoneu visceral (T4a) ou invadem directamente outros órgãos ou estruturas (T4b), sem comprometer o sistema linfático são classificados como estadio IIA (T3, N0, M0), estadio IIB (T4a, N0, M0) ou IIC (T4b,N0,M0) respectivamente.(77) O envolvimento de gânglios regionais, sem metastização à distância constitui o estadio III. (77)

Estão definidas três categorias para o grau de comprometimento dos gânglios linfáticos: N0- não existe envolvimento linfático,

N1- envolvimento de 1 a 3 gânglios (N1b: 2 a 3 gânglios regionais e N1c:depósitos tumorais no tecido adiposo pericorectal sem evidência histológica de gânglio residual no nódulo).

N2 - metastização em 4 ou mais gânglios (N2a: 4 a 6 gânglios e N2b: 7 ou mais gânglios).(77)

O estadio IIIA é constituído por tumores T1 ou T2, N1, M0 ou por T1, N2a, M0. No que respeita ao estadio IIIB este engloba os tumores T3, T4a, N1, M0 ou T2, T3, N2a, M0 ou T1, T2, N2b, M0. (77) Do estadio IIIC fazem parte os tumores T4a, N2a, M0 ou T3, T4a, N2b, M0 ou ainda os tumores T4b, N1, N2, M0. (77) A detecção das metástases à distância define o estadio IV. (77) A designação M1a refere-se a metástases confinadas a um órgão (fígado, pulmão ou outros), enquanto M1b implica metástases em mais do que um órgão ou no peritoneu. (77) O estadio IV engloba os estadios IV A (qualquer T, qualquer N, M1a) e o estadio IV B (qualquer T, qualquer N, M1b). (77) À medida que a neoplasia invade estruturas adjacentes, o risco de disseminação ganglionar e metastização à distância aumenta (tabela VI). (74)

Cerca de 1/3 dos pacientes com CCR acabam por desenvolver metástases hepáticas. (73). Muito raramente o CCR se dissemina para os pulmões ou outros órgãos sem antes ter comprometido o fígado. (58) Todos os doentes devem por isso ser acompanhados de um estudo imagiológico hepático pré-operatório. (60)

Embora o prognóstico dos doentes com CCR dependa da invasão tumoral na parede intestinal, do envolvimento de gânglios locais e de metástases à distância, só é possível definir exactamente o estadio da doença na fase pós-operatória. (58)

O estadiamento inicial é o factor de prognóstico preditivo mais fiável no que se refere à taxa de sobrevida aos 5 anos. (78) Os pacientes que se encontram no estadio I têm, uma vez efectuada a cirurgia de remoção do tumor, uma taxa de sobrevida aos 5 anos > 90%. (53) Nos tumores que se encontrarem no estadio II, a taxa de sobrevida é de 80%. (53). No que se refere ao estadio III a taxa de sobrevida varia entre os 35% e os 70%, dependendo do número de gânglios envolvidos e da presença de factores de risco. (53) O estadio IV é o que apresenta pior prognóstico, com apenas 5% de sobrevida após o diagnóstico. (53)

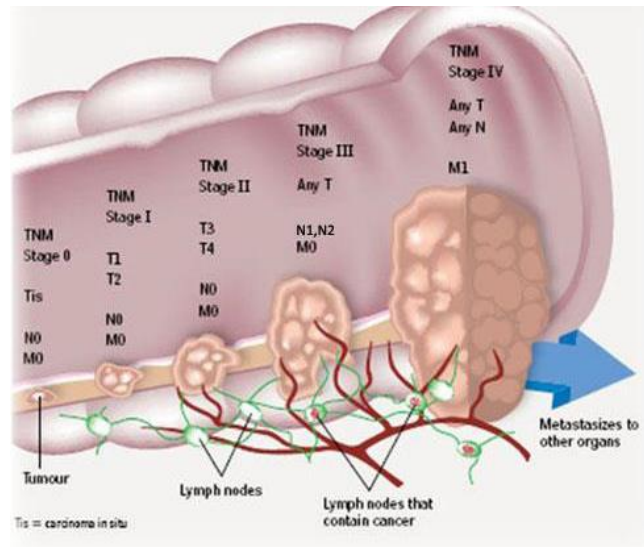


Figura IV- Sistema de classificação *TMN*, anexo 9

Tabela VI- Sistema de classificação *TMN* e definições, anexo 10

Stage category	Definitions		
TX	Primary tumor cannot be assessed		
To	No evidence of primary tumor		
Tis	Carcinoma <i>in situ</i> ; intraepithelial or invasion of lamina propria		
T1	Tumor has invaded the submucosa		
T2	Tumor has invaded into muscularis propria		
T3	Tumor has invaded through the muscularis propria and into the pericolic tissues		
T4a	Tumor perforates visceral peritoneum		
T4b	Tumor directly invade other organs or structures		
NX	Regional lymph nodes cannot be assessed		
No	No lymph node metastasis		
N1	Metastasis in one to three regional lymph nodes		
N1a	Metastasis in one lymph node		
N1b	Metastasis in two to three lymph nodes		
N1c	Tumor deposits in the subserosa, mesentery or non-peritonealized pericolic or perirectal tissues without lymph node metastasis		
N2	Metastasis in four or more regional lymph nodes		
N2a	Metastasis in four to six lymph nodes		
N2b	Metastasis in seven or more lymph nodes		
Mo	Mo distant metastasis		
M1	Distant metastasis present		
M1a	Distant metastasis in one organ or site		
M1b	Distant metastasis in more than one organ or site		
Stage I	T1-2NoMo		
Stage II	T3-4NoMo	Stage IIA	T3NoMo
		Stage IIB	T4aNoMo
		Stage IIC	T4bNoMo
Stage III	AnyTN1-2Mo	Stage IIIA	T1-2N1Mo
			T1N2AMo
		Stage IIIB	T3-4aN1bMo
			T2-3N2aMo
			T2-3N2bMo
		Stage IIIC	T4aN2aMo
Stage IV	AnyTanyNM1		T3-4aN2bMo
			T4bN1-2Mo
		Stage IVA	AnyTanyNM1a
		Stage IVB	AnyTanyNM1b

3.6 Terapêuticas Convencionais

As terapêuticas convencionais disponíveis para o tratamento do CCR incluem a cirurgia, a quimio e a radioterapias, assim como alguns fármacos anti-angiogénicos.(16)

3.6.1 Cirurgia:

A principal terapêutica do CCR é a cirurgia. (73) O seu objectivo consiste na remoção do tumor primário com margens adequadas e na realização de linfadenectomia regional, sendo que, pelo menos, doze gânglios devem ser isolados para um correcto estadiamento patológico do tumor.(73)

Aproximadamente 92% dos doentes com cancro do cólon e 84% com cancro rectal são submetidos, como primeira opção terapêutica, a cirurgia. (79) Os avanços nas técnicas de intervenção cirúrgica têm permitido aumentar a percentagem de pacientes potencialmente curáveis.(73) O desenvolvimento de técnicas como a ressecção em bloco, a excisão total do mesorecto para o carcinoma rectal e a laparoscopia são alguns exemplos. (73) A laparoscopia é actualmente vista como uma boa alternativa à cirurgia clássica, com a vantagem da necessidade de menor tempo de internamento, menos dores no pós-operatório e uma recuperação mais precoce da função intestinal.(73) Contudo alguns estudos apontam para um maior risco de disseminação intraperitoneal e hemática das células neoplásicas com esta técnica cirúrgica, comparada com a cirurgia aberta.(73)

No cancro de cólon sem componente familiar associada, as lesões à direita são submetidas a hemicolectomia direita e as do lado esquerdo a hemicolectomia esquerda ou sigmoidectomia.(31) Nos casos de obstrução intestinal, as lesões do lado direito devem ser submetidas a uma hemicolectomia direita com anastomose primária, (figura V), ao passo que as neoplasias do cólon esquerdo podem ser tratadas com uma colectomia sub-total, uma colectomia segmentar com *wash-out on table* ou uma operação tipo Hartmann (31,80).

Na síndrome de Lynch o tratamento passa por uma colectomia total pelo risco de lesões metácronas. Na PAF está indicada a proctocolectomia total ou a colectomia total caso o recto não se encontre comprometido.(16,59)

A abordagem cirúrgica aos tumores do recto está dependente da localização da neoplasia. Os tumores proximais e do recto médio são submetidos a ressecção anterior baixa com anastomose primária, podendo nestes últimos ser necessário uma ileostomia ou colostomia temporárias.(76) Para os tumores do recto distal está indicada a amputação abdominoperitoneal com colostomia definitiva, nos casos em que não é possível conservar o esfíncter.(76)

A excisão do mesorecto é outra das alternativas no tratamento cirúrgico do carcinoma rectal.(17) Nesta técnica ocorre dissecação para além do plano do mesorecto com margens circunferenciais bem definidas, sendo o recto conjuntamente com a gordura e gânglios linfáticos envolventes retirados em bloco.(76) Estudos prospectivos associam a diminuição da taxa de recorrência local com o emprego desta técnica e aumento da sobrevida aos 5 anos.(17,73)

Para os tumores do 1/3 superior do recto é recomendada uma dissecação transversa do mesorecto 5 cm abaixo da neoplasia. Os carcinomas nos 2/3 distais implicam uma excisão total do mesorecto (ETM) (60)

Nos CCRm ressecáveis é indicado hepatectomia parcial quando as metástases se encontram ao nível do fígado.(58) Nestes casos a taxa de sobrevida aos 5 anos é de 25 a 30%.(58) Quando a cirurgia não é possível, seja pelo número de metástases ou seja pela presença de doença extra-hepática, a alternativa é a ablação por radiofrequência. (73)

Relativamente às metástases pulmonares uni ou bilaterais ressecáveis a cirurgia é uma das opções de tratamento, nos casos em que há ausência de recorrência local

e/ou outras lesões primárias e ausência de doença extra-pulmonar (excepto metástases hepáticas prévias ou síncronas).(73)

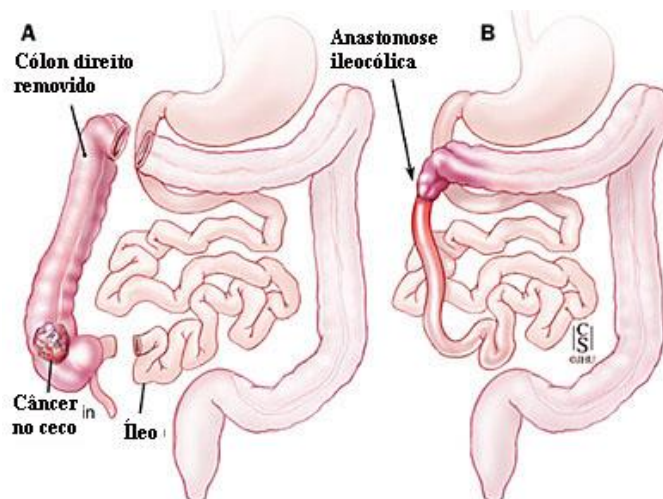


Figura V- Colectomia direita com anastomose ileocólica, anexo 11

3.6.2 Terapêutica Adjuvante e Neo-adjuvante

3.6.2.1 Cólon:

A maioria dos doentes com CCRm são candidatos a regimes quimioterápicos para alívio dos sintomas e prolongamento da sobrevida. (74) Os pacientes com carcinoma do cólon e envolvimento ganglionar (estadio III) devem ser submetidos a quimioterapia adjuvante. (73) Estudos indicam uma redução da mortalidade em aproximadamente 33% nestes pacientes. (73)

Nos CCR de estadio II o uso de quimioterapia não é aconselhável, visto que a maioria é curável recorrendo à cirurgia.(18) No entanto pode ser uma opção em certos tumores em estadio II: tumor T4, tumor com perfuração ou obstrução intestinal e menos de 12 gânglios isolados na cirurgia, adenocarcinoma pouco diferenciado ou indiferenciado.(18,76)

O principal agente utilizado em quimioterapia é o 5-Fluoracilo (5-FU), um inibidor da sintetase da timidilato.(74,76) O 5-FU é normalmente administrado juntamente com a leucoverina (LV), aumentando a afinidade deste agente ao seu alvo terapêutico. (58,74,76) Há evidência que em aproximadamente 20% dos doentes com CCR metastizado registar-se-à uma redução de 50% no tamanho tumoral quando comparado à administração isolada de 5-FU.(74) O 5-FU é administrado por via endovenosa, (IV), sendo a infusão melhor tolerada do que o bólus.(81) A neutropénia e a diarreia são alguns dos seus efeitos indesejados.(81) Uma alternativa ao 5-FU é a administração do seu pró- fármaco – Capecitabina, por via oral. (74,76) .A Capecitabina apresenta eficácia semelhante e é melhor tolerada face à administração IV de 5-FU. (18,74,76).

A oxaliplatina é um análogo da platina, que actua na replicação do ADN, conduzindo à apoptose celular.(76) A sua principal reacção adversa é a neuropatia sensorial dose – dependente, que desaparece após a retirada do fármaco.(58) Quando utilizada isoladamente a oxaliplatina não é muito eficaz, contudo a sua associação com o com o 5-FU e LV demonstrou aumentar a resposta face ao tratamento em doentes metastásicos.(18,58,76).

O irinotecano, um inibidor da topoisomerase I, é um agente de segunda linha no tratamento da doença metastásica.(76) Os seus efeitos secundários mais comuns incluem a diarreia, a alopecia e a mielosupressão. (74,76) Actualmente as recomendações indicam o uso de uma associação de fármacos como quimioterapia de primeira linha. A associação de 5-FU, LV e oxaliplatina ou irinotecano apresentam maior benefício terapêutico comparativamente à administração isolada de 5-FU e LV.(82)

O esquema FOLFOX consiste na associação de oxaliplatina, 5-FU em bólus e infusão continua e LV, constituindo a terapêutica padrão no CCR em estadio III.(18,58) O esquema FOLFIRI combina o irinotecano, a LV e o 5-FU.(58,76) Estudos recentes

demonstraram que o FOLFIRI aumenta a toxicidade terapêutica, sem melhoria significativa dos resultados da sobrevida.(58,74,76)

O esquemaXELOX consiste em oxaliplatina e capetacina em associação, com finalidade neo-adjuvante (tabela VII). (83) Vários estudos têm comprovado que o esquema XELOX apresenta uma eficácia similar ao FOLFOX, contudo mais estudos são necessários para avaliar o seu papel.(83)

Nos tumores com instabilidade de microssatélites o tratamento com irinotecano tem apresentado benefícios significativos, contudo a maioria destes tumores tem uma fraca resposta ao tratamento por quimioterapia. (84)

Os anticorpos monoclonais contra os receptores do factor de crescimento do endotélio vascular (VGFR) e os receptores do factor de crescimento epidérmico (EGFR) fazem parte do arsenal terapêutico para o CCR metastizado.(85) Embora os agentes citotóxicos sejam mais eficazes nos tumores de crescimento rápido, os agentes antiangiogénicos actuam quer nestes quer nos tumores de crescimento lento, independentemente do seu grau de vascularização. (16) Tumores menos vascularizados são mais susceptíveis aos agentes antiangiogénicos.(16)

O Bevacizumab é um fármaco que se liga ao factor de crescimento do endotélio vascular (VEGF) e impede a interacção com o seu receptor, inibindo a angiogénese.(16,74,76). Têm sido conduzidos estudos que avaliam a sua associação aos regimes que contêm irinotecano e ao Folfox, e dos quais se conclui um aumento do tempo livre de doença e da sobrevida nas diversas associações.(16,74,76) O Bevacizumab é bem tolerado sendo os seus principais efeitos adversos a hipertensão, a proteinúria e o aumento do risco de fenómenos tromboembólicos.(16,74,76) Não deve ser englobado nos esquemas de terapêutica pós-operatória, carecendo de mais estudos.(74,76)

O EGFR é uma proteína transmembranar que regula as vias de sinalização que afectam o crescimento e proliferação das células neoplásicas.(76,85) A expressão desta

molécula pode ser detectada em cerca de 70% dos doentes com CCR e relaciona-se com pior prognóstico.(85) De facto a mutação do oncogene K-Ras, presente em 40% dos CCR esporádicos, conduz a uma activação independente e permanente do EGFR, resultando na proliferação e migração de células tumorais.(85) Os pacientes portadores desta mutação parecem ser resistentes à terapêutica anti-EGFR.(74,85)

O Cetuximab e o Panitumumab são outros agentes anti-EGFR eficazes no CCR.(74) Estudos realizados com o Cetuximab revelaram um efeito sinérgico com outros agentes quimioterapêuticos, nomeadamente com o irinotecano. (58,76) O seu principal efeito adverso é o surgimento de um exantema acneiforme, cuja gravidade se relaciona com a eficácia anti-tumoral.(58,85)

O papel do Cetuximab em regimes adjuvantes de terapêutica, tal como acontece com o Bevacizumab, carece de mais estudos, pelo que não é recomendada a introdução nestes programas. (74) O Panitumumab tem eficácia similar ao Cetuximab apresentando menor percentagem de efeitos colaterais.(76,85)

Vários estudos têm sido conduzidos por forma a testar a eficácia da associação de anticorpos monoclonais anti-VGFR e anti-EGFR nos doentes com CCRm. (74) Estudos recentes demonstraram resultados superiores, com melhor resposta tumoral ao tratamento e maior sobrevida livre de doença, nos pacientes sujeitos a a terapêutica concomitante de Bevacizumab e Cetuximab.(74)

A radioterapia não é eficaz no tratamento do cancro do cólon.(58)

Tabela VII- Esquemas quimioterapêuticos do CCR e seus efeitos adversos, anexo 12

Regimens	XELOX (capecitabina + oxaliplatin)	FOLFOX (5-FU/LV/oxaliplatin)	FOLFIRI (5-FU/LV/irinotecan)
Side effects	<input type="checkbox"/> Nausea and vomiting	<input type="checkbox"/> Risk of infection	<input type="checkbox"/> Nausea and vomiting
	<input type="checkbox"/> Diarrhoea	<input type="checkbox"/> Diarrhoea	<input type="checkbox"/> Risk of infection
	<input type="checkbox"/> Hand-Foot syndrome	<input type="checkbox"/> Mouth sores	<input type="checkbox"/> Mouth sores
	<input type="checkbox"/> Neuropathy	<input type="checkbox"/> Han-foot syndrome	<input type="checkbox"/> Anemia
		<input type="checkbox"/> Numbness or tingling	
		<input type="checkbox"/> Plantar-palmar syndrome	
Type	Neoadjuvant treatment	Adjuvant treatment	Palliative treatment

3.6.2.2 Recto:

A terapêutica adoptada para tratamento do cancro rectal, nos estadios II e III baseia-se na quimiorradioterapia pré-operatória, seguida de ressecção cirurgica com ETM e quimiorradioterapia adjuvante.(76) O tratamento cirúrgico isolado está associado a um elevado número de recidivas locais, o que implica terapêutica adjuvante para controlo das metástases locais e à distância.(18) A radio e a quimioterapia sistémica estão indicadas para tumores T3 e T4 com envolvimento ganglionar. (18)

A radioterapia neoadjuvante pode ser empregue com duas finalidades: tornar ressecável um tumor previamente irressecável ou utilizada para neoplasias ressecáveis. (60) No primeiro caso é recomendada por 5 semanas seguidas, com um intervalo de seis semanas antes da cirurgia e no segundo caso para diminuição do risco de uma potencial recorrência local.(60) De referir que apesar de permitir diminuir o número de recidivas locais, não há prolongamento da sobrevida por radioterapia pré-operatória, mesmo quando aplicada à ETM.(18,70)

A associação da radio à quimioterapia adjuvante tem-se revelado mais eficaz no tratamento do cancro rectal ressecado nos estadios II e III, do que quando se utiliza somente o tratamento cirúrgico ou a quimio ou radioterapia pós-operatória isoladas . (74,76) Este facto traduz-se em menores índices de recorrência e melhor sobrevida. (74,76) No tratamento do carcinoma do recto recomenda-se a administração de 5-FU em associação com a LV. (73) Os dados actuais não recomendam o uso de Capecitabina, Irinotecano ou Oxiplatina, assim como, Bevacizumab e Cetuximab no tratamento adjuvante do carcinoma do recto.(76)

A terapêutica combinada tem revelado melhores resultados ao nível do controlo local da patologia, da toxicidade e da necessidade de colostomia comparativamente com os pacientes em estadio II ou III submetidos apenas ao tratamento adjuvante.(73,74) Não se observam diferenças na sobrevida entre os doentes tratados com quimiorradiação neoadjuvante ou adjuvante.(73,74,81)

3.6.3 Tratamento da doença irressecável

Para os tumores irressecáveis a cirurgia paliativa de *bypass* ou a colocação de *stents* nos carcinomas rectais ou do cólon esquerdo podem aliviar a sintomatologia obstrutiva.(86) No estadio IV o principal objectivo é melhorar a qualidade de vida do doente por meio do controlo da dor. (86) A cirurgia é efectuada com fins paliativos para evitar complicações, como a obstrução ou a perfuração intestinal, sendo seguida de quimioterapia para o controlo das metástases.(86)

A radioterapia paliativa está indicada apenas para o cancro do recto, enquanto a quimioterapia constitui o tratamento de eleição do CCR irressecável.(60) Apesar de ter carácter paliativo a quimioterapia pode aumentar a sobrevida dos pacientes em alguns meses.(60) Quando administrada precocemente na CCRm conduz a melhores resultados do que se administrada apenas quando surgem sintomas, aumentando a sobrevida de 3 para 6 meses.(70)

3.7 Prognóstico e Follow up

O estadio da doença no momento do diagnóstico é um factor chave na avaliação da sobrevida dos doentes. (75) Como grande parte das recorrências ocorrem nos primeiros quatro anos após a cirurgia, a sobrevida aos cinco anos constitui um bom indicador de cura. (58) A análise das taxas de sobrevida aos 5 anos do CCR permite concluir que, quando o diagnóstico é feito precocemente, a sobrevida é maior decrescendo à medida que o estadio avança. (74) Para o estadio I a sobrevida é superior a 90%, diminuído para 70-85% no estadio II, para 25-80% no estadio III e menos de 10% no IV. (74) Os avanços nas técnicas cirúrgicas, nos meios de detecção e nas novas terapêuticas implementadas permitiram uma evolução dos tempos de sobrevida nos doentes com CCR metastático.(58) Dos 6-9 meses expectáveis, a média de sobrevida é agora de 24-30 meses quando um pequeno nódulo hepático é detectado.(58)

O doseamento pré-operatório de ACE, a par do estadiamento clínico e patológico, é um marcador fundamental no prognóstico e follow up do CCR. No CCR, o tamanho da lesão primária, o maior ou menor grau de envolvimento ganglionar e a sua diferenciação, não constituem indicadores directos do prognóstico do doente.(58)

A instabilidade de microssatélites e as deleções cromossómicas específicas contituem os indicadores moleculares com maior relevância no prognóstico de CCR. (58,74) A primeira pode ser encontrada na maioria dos doentes com CCRHNP, mas também em 15 a 20% dos CCR esporádicos.(74,76) No caso das deleções cromossómicas, de que é exemplo a a perda alélica no cromossoma 18q das células neoplásicas presente em 50% dos cancros do cólon, o prognóstico é mais desfavorável, aumentando o risco de metastização.(58,74,76)

Os principais objectivos do *follow-up* dos doentes com antecedentes de CCR são: o diagnóstico de pólipos metácronos ou de novos CCR primários e a detecção de recidivas (hepáticas, pulmonares) num estadio precoce. (60) Vários estudos têm revelado que, independentemente do tratamento adjuvante, aproximadamente 30 a 40% dos doentes com CCR em estadio III e cerca de 25% em estadio II, irão desenvolver metastização local ou distal nos 4 anos seguintes. (18) Torna-se assim necessário efectuar o acompanhamento desteS doenteS através de avaliações médicas periódicas e da realização de exames de diagnóstico complementares: colonoscopia, doseamento dos níveis de CEA, TAC abdomino-pélvica, radiografia do tórax.(75)

Vários estudos comprovam a importância de um follow-up intensivo para obtenção de melhores resultados e aumento da percentagem de pacientes que podem ser submetidos a cirurgia com fim curativo.(18,74,76).

A realização de TAC abdomino-pélvica, com vista a detectar uma recorrência tumoral assintomática, é recomendada anualmente nos primeiros 3 anos após a cirurgia.(18) A TAC pélvica deve também integrar o seguimento dos doentes com história de carcinoma rectal, principalmente os que não foram sujeitos à

radioterapia.(18) Todos os doentes devem efectuar uma colonoscopia pré ou perioperatoria, estando a reavaliação recomendada 3 anos após o tratamento cirúrgico.(74,76) Nos casos em que a reavaliação é negativa, a realização de uma colonoscopia é recomendada a cada 5 anos .(18,76) A sigmoidoscopia flexível é recomendada a cada 6 meses, durante 5 anos, para pacientes com cancro do recto que não fizeram radioterapia.(18)

Um marcador serológico importante e muito utilizado no follow-up do CCR é o doseamento no sangue dos níveis de ACE em intervalos de 2 a 3 meses, durante os 2 anos primeiros anos após ressecção de doença em estadio II ou III. (75) Esta medida é mais eficaz na detecção de recidiva tumoral nos doentes submetidos a ressecção de CCR primário do que a realização de radiografia torácica, colonoscopia e outros exames médicos complementares.(75)

IV – IMUNOLOGIA

4.1 O sistema imunitário

Cerca de 70% das células do sistema imunitário do organismo humano encontram-se localizadas no intestino. (87) O sistema imunitário é constituído por diferentes órgãos e tecidos que, de acordo com a sua função são classificados em dois grupos – órgãos linfoides primários e órgãos linfoides secundários.(88) Pode ainda considerar-se uma outra classificação, em que o sistema imunitário é constituído por uma componente menos específica, a imunidade inata, e por uma componente mais específica, a imunidade adquirida ou adaptativa.(13,88)

O microambiente tumoral é caracterizado por uma rede complexa de células do estroma, células inflamatórias e células imunitárias inatas e adaptativas. (89) Tanto as células imunitárias inatas [macrófagos, mastócitos, neutrófilos, células dendríticas (DC), células mieloides derivadas de células supressoras e células natural killer (NK)] como as células imunitárias adaptativas (linfócitos T e B) estão presentes e interagem com o tumor através de contacto directo ou através da sinalização por quimiocinas e citocinas.(13).

Da interação entre as células tumorais e o sistema imunológico surge o conceito de cancer immunoediting, um processo duplo do qual fazem parte as ações imunitárias que promovem a proteção contra tumores e as que promovem a formação de tumores.(89) Este processo engloba uma fase de eliminação, uma fase de equilíbrio e uma fase de escape.(89,90)

Na fase de eliminação (conceito que veio substituir cancer immunosurveillance), observa-se o reconhecimento e a destruição das células tumorais primitivas pela interação de mecanismos da imunidade inata e da imunidade adaptativa.(89,90) Caso não se verifique uma eliminação completa das células tumorais, atinge-se uma fase de equilíbrio, ou período de latência, na qual a imunidade adaptativa controla o crescimento

de células tumorais clinicamente indetectáveis e bloqueia a sua imunogenicidade. (89,91). Quando o seu estado de latência termina, as células malignas com reduzida imunogenicidade iniciam a fase de escape, caracterizada pela evasão à eliminação, progressão tumoral e expressão clínica. (figura VI) (89,92)

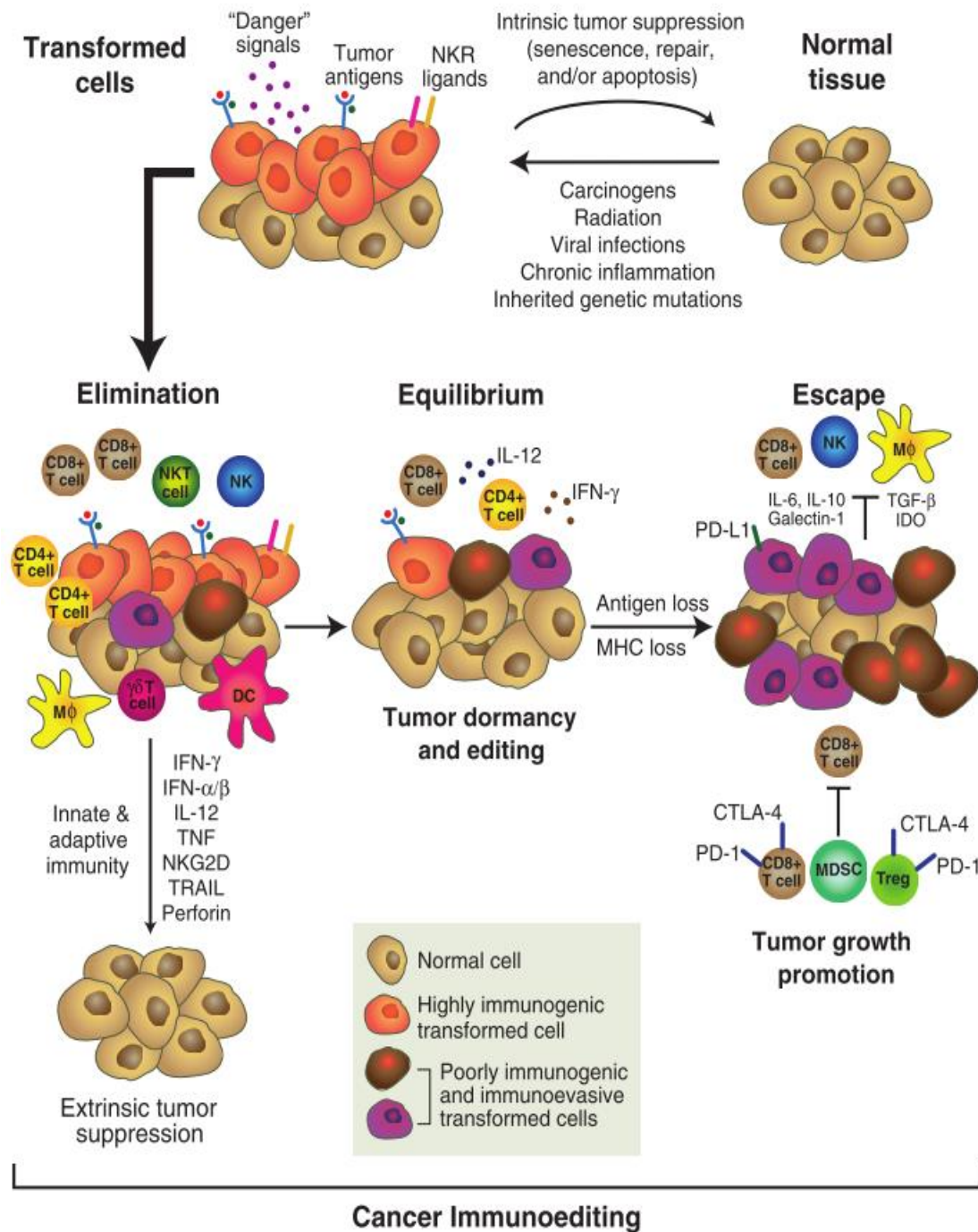


Figura VI- Os três E's de *cancer immunoediting*, anexo 13

4.1.1 Imunidade Inata

A imunidade inata constitui o primeiro mecanismo de defesa do organismo humano. (93) No que se refere ao cancro, o sistema imune inato reconhece antígenos tumorais específicos presentes na superfície das células cancerosas.(13)

A maioria dos componentes da imunidade inata encontra-se presente mesmo antes da ocorrência de uma infeção e constitui um conjunto de mecanismos que reconhecem as moléculas próprias do organismo daquelas que lhe são estranhas, mas não são especializados na distinção das pequenas diferenças entre as moléculas estranhas (88). Pode considerar-se que a imunidade inata compreende quatro tipos de barreiras: anatómicas, fisiológicas, fagocíticas e inflamatórias.(88)

As células imunitárias inatas, tais como as células NK (natural killer), reconhecem a escassez de moléculas do complexo major de histocompatibilidade (MHC) de classe I nas células tumorais, provocam a morte dessas células e, em seguida, recrutam outras células inflamatórias através da produção de citocinas.(13) Os macrófagos e as células dendríticas, DCs, fagocitam as células tumorais apresentado posteriormente na sua superfície o antígeno associado ao tumor que activa uma resposta específica de linfócitos T. (13)

4.1.1.1 Células apresentadoras de APC:

As células apresentadoras de antígenos (APCs) são células especializadas que incluem os macrófagos, os linfócitos B e as DCs. Expressam moléculas de MHC de classe II nas suas membranas e são capazes de activar os linfócitos T helper (TH). (88)

As APCs internalizam os antígenos, por fagocitose ou endocitose e apresentam parte desse antígeno na sua membrana ligado a uma molécula de MHC de classe II.(88) Os linfócitos TH reconhecem e interagem com o complexo antígeno-MHC II.(88) Um sinal adicional é então produzido pela APC levando à ativação do linfócito TH. (fig VII) (88)

4.1.1.2 Macrófagos:

Os macrófagos constituem a primeira linha de defesa perante agentes patogénicos e têm uma variedade de funções tanto no que se refere ao despoletar do processo inflamatório como ao da sua resolução (94,95) Exercem funções maioritariamente efectoras e são capazes de accionar, através do processamento e apresentação de antígenos, mecanismos de imunidade adquirida.(96)

Determinados estímulos alteram a expressão genética destas células de forma a serem produzidos “macrófagos ativados”. (96) De acordo com o processo de polarização, os macrófagos são caracterizados como “classicamente ativados” (M1) ou como “alternativamente ativados” (M2). (95,96) Estes processos são induzidos por estímulos diferentes, tais como lipopolissacarídeos (LPS) e interferão- γ (IFN- γ) para a via clássica e IL-4 para a via alternativa. (95)

Os macrófagos presentes em tumores (macrófagos associados a tumores, TAM) executam funções homeostáticas importantes que permitem a manutenção e crescimento do tumor.(97)

O microambiente tumoral é um factor chave no processo de carcinogénese. (93) Os M1 são macrófagos com capacidades que permitem a inibição do crescimento tumoral; produzem moléculas pró-inflamatórias (IL-6, IL-12, IL-23 e TNF α) e promovem a imunidade adquirida através do aumento da expressão de moléculas de MHC II.(91,93) Contrariamente os M2 segregam citocinas imunossupressoras e promovem o crescimento tumoral.(93) Entre as células com o fenótipo M2, demonstrou-se que os TAM apresentam a capacidade de segregar proteases, tais como as metaloproteinases de matriz (MMPs) que promovem a invasão e a metastatização, em conjunto com uma variedade de citocinas, que inibem uma resposta imunitária adquirida ao tumor, e com fatores angiogénicos, tais como EGF e o VEGF, que promovem a neovascularização. (93,98)

Perante uma resposta inflamatória persistente pode ocorrer formação de espécies reativas de oxigénio (ROS) que podem desencadear mecanismos de progressão da neoplasia.(96,98)

Alguns TAM secretores de IL-12 e IL-23 desempenham funções antitumorais.(93)

4.1.1.3 Mastócitos:

Os mastócitos encontram-se localizados na superfície epitelial de vasos sanguíneos, de nervos e de glândulas e têm origem nas células hematopoiéticas da medula óssea(99,100)

Apresentam capacidade pleiotrópica, o que se traduz em capacidade de segregação de um largo espectro de moléculas biologicamente activas com propriedades pró- inflamatórias, anti-inflamatórias e/ou imunossupressoras.(99) Entre estas moléculas estão vários mediadores associados a grânulos, (histamina, serotonina, heparina, triptase, $\text{TNF}\alpha$, VEGF), vários mediadores derivados de lípidos prostaglandinas, leucotrienos) várias citocinas ($\text{TGF-}\beta$, IL-6) e ainda várias quimiocinas. (100). Estas moléculas podem ser divididas em três categorias: mediadores pré-formados, que são instantânea e rapidamente libertados por desgranulação dos mastócitos; mediadores lipídicos ou neoformados, com origem nos fosfolípidos de membrana e os mediadores neosintetizados, que começam a ser sintetizados 12 a 18 horas após a activação dos mastócitos. (99,101) A rápida libertação destas moléculas é fundamental para o início da resposta imunitária no local da infeção, permitindo quer o rápido desencadeamento dos fenómenos de quimiotaxia que lhe estão associados quer providenciando sinais coestimuladores para a ativação de células imunitárias.(99)

Entre as moléculas libertadas de forma imediata pelos mastócitos, a $\text{TNF-}\alpha$, uma citocina pré- formada, desempenha um papel fundamental na imunidade inata ao promover a eliminação de agentes patogénicos. (99) Os compostos libertados pelos mastócitos contribuem igualmente para a resposta imunitária adquirida, funcionando

como mediadores para o recrutamento e ativação de linfócitos B ,(LB) e linfócitos T, (LT). (99).

A activação do receptor da tirosina cinase c-Kit (c-KitR) pelo factor de células estaminais (FCE) e pela triptase desempenha um papel fundamental na angiogénese tumoral. (100) O aumento da activação da via do c-KitR conduz à activação dos mastócitos com libertação de citocinas pró-angiogénicos e de triptase, contribuindo para o reforço da sinalização pró-angiogénica.(100)

A triptase é um agonista do receptor ativado por proteases 2 (PAR-2), que é expresso em células epiteliais e endoteliais com atividades proteolíticas.(100) A activação deste receptor pela triptase conduz à proliferação celular e à libertação de IL-6 e do fator estimulador de colónias de granulócitos e de macrófagos (GM-CSF), que actuam como moléculas pró- angiogénicas.(100) Além disso, a triptase degrada os componentes da matriz extracelular, ativando as MMPs e os ativadores do plasminogénio, contribuindo para a invasão de células tumorais. (100)

No CCR, os mastócitos acumulam-se em pólipos adenomatosos, sugerindo o seu envolvimento nestes tumores em estádios iniciais.(102) Os mastócitos contribuem para a angiogénese no CCR pelo aumento da densidade microvascular em tecidos tumorais.(102). Há evidência de correlação positiva entre a presença de mastócitos e a diminuição da sobrevida em doentes com CCR.(100)

4.1.1.4 Células *natural killer*

As células NK são linfócitos granulares que fazem parte do sistema imunitário inato. São parte da primeira linha de defesa no combate às neoplasias e/ou no combate às células infectadas com agentes patogénicos. (92,93)

No CCR, níveis elevados de células NK têm sido associados a um melhor prognóstico, com diminuição destes valores para fases mais avançadas do cancro.(93)

Estas células possuem dois tipos de receptores: os receptores de activação,

como é o caso do NKG2D, e os killer inhibitory receptors (KIR). (91) O receptor NKG2D reconhece diferentes ligandos que se encontram sobre-expressos nas células tumorais, enquanto que os KIR reconhecem as moléculas de MHC de classe I sub expressas.(91)

Uma vez reconhecido o alvo, as células NK procedem à libertação de citocinas e ao recrutamento de outras células do sistema imunológico através da secreção de IFN- γ e do TNF α . (92) Podem também direccionar a atividade citotóxica. (92) A citotoxicidade pode ser subdividida em citotoxicidade natural, que não requer estimulação prévia, e em citotoxicidade celular dependente de anticorpos (ADCC).(92) Nesta última, os anticorpos presentes nas células alvo são reconhecidos pelas células NKCD16 (cluster de diferenciação 16) e, subsequentemente, eliminados. (92)

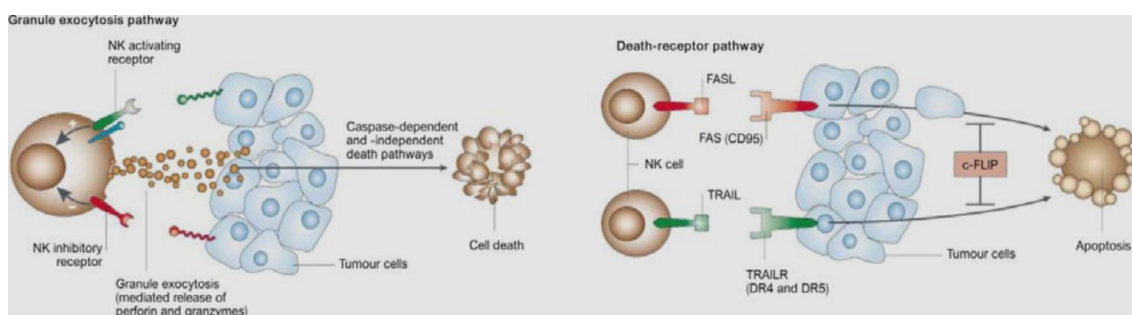


Figura VII- Modos de indução de citotoxicidade pelas células NK, anexo 14

Parte esquerda- Indução da morte celular através da libertação de grânulos líticos contendo perforina/granzima. Parte direita- Os ligandos indutores de morte celular nas células NK desencadeiam a apoptose mediada por caspase em células que expressam os respectivos receptores.

4.1.1.5 Células dendríticas

As células dendríticas podem ser classificadas em dois tipos: células dendríticas convencionais (cDCs) e células dendríticas plasmacitóides (pDCs). (103) São caracterizadas pela expressão de moléculas MHC de classe I, moléculas MHC de classe II e moléculas coestimuladoras (B7, ICAM-1, LFA-1, LFA-3 e CD40). (15,93) Estas moléculas articulam-se conjuntamente por forma a gerar uma rede de sinalização

secundária, essencial para reforçar a resposta do antígeno na ativação dos linfócitos T.(15)

Evidências relacionam a presença de DCs a um melhor prognóstico nos doentes com CCR.(93) As DCs processam antígenos sintetizados endogenamente em péptidos antigénicos, que são apresentados na superfície da célula pelas moléculas de MHC de classe I e reconhecidos pelos recetores dos LT (TCRs) em linfócitos T CD8+ naive.(15)

As DCs podem igualmente capturar e processar antígenos exógenos, que são apresentados por moléculas de MHC de classe I através de uma via endógena num processo conhecido como "cross-presentation".(15) Os antígenos exógenos capturados pelas DCs são degradados em peptídeos antigénicos por proteases e peptidases no compartimento endossomal/lisossomal.(15) Estes antígenos, posteriormente, complexam com moléculas de MHC de classe II para reconhecimento pelo TCR de linfócitos T CD4+ naive. (15)

A eficiente apresentação de antígenos pelas moléculas de MHC de classe I e de classe II nas DCs é essencial para desencadear respostas imunitárias específicas para o tumor. (15) As DCs maduras são mais eficientes no que respeita ao processamento e apresentação do complexo MHC-peptídeo ao TCR devido à maior expressão de MHC de classe I, MHC de classe II e moléculas coestimuladoras.(15) Depois da captação dos antígenos e da estimulação pela resposta inflamatória, as DCs imaturas nos tecidos periféricos sofrem um processo de maturação caracterizado pelo aumento da expressão de moléculas de MHC de classe I e de classe II, de moléculas coestimuladoras e de recetores de quimiocinas, tais como CCR7, e pelo aumento da secreção de citocinas, tais como a IL-12. (15) As DCs maduras migram para os órgãos linfóides secundários, onde apresentam os antígenos aos linfócitos T CD4+ e CD8+. (15)

4.1.1.6 Neutrófilos

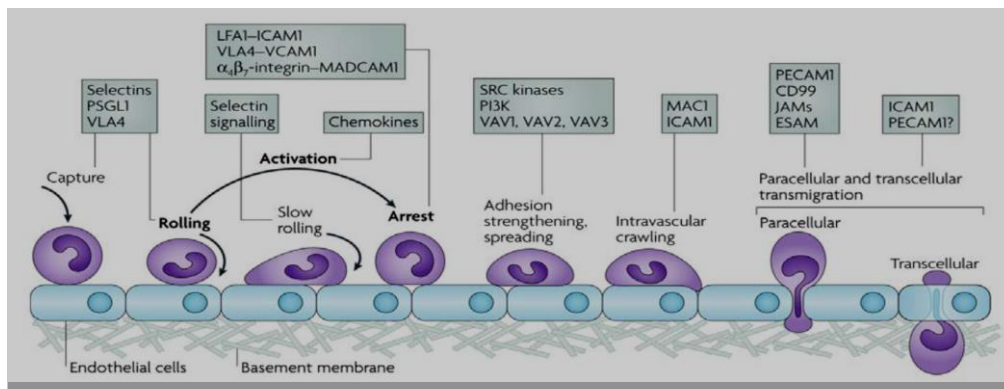
Os neutrófilos são o tipo de leucócitos mais abundante no sangue.(104) São produzidos por hematopoiese na medula óssea e, geralmente, são os primeiros a chegar ao local de inflamação (figura VIII). (88,104)

Uma série de substâncias geradas durante o processo inflamatório funcionam como fatores quimiotáticos promovendo a acumulação de neutrófilos no local da inflamação.(88).

Os neutrófilos activados produzem e libertam mediadores pró- inflamatórios: IL-1, IL-8, proteína inflamatória de macrófagos 1s (MIP- 1s), além de que sintetizam e armazenam nos grânulos grandes quantidades de ROS, de serina-proteases e de enzimas, incluindo a mieloperoxidase (MPO) e a lisozima.(105) A MPO é responsável pela formação de ácido hipocloroso, que tem actividade citotóxica.(105).

Os neutrófilos desempenham um papel fundamental na proliferação do tumor, produzindo uma série de ligandos que induzem a proliferação e invasão de células tumorais e promovendo a vascularização tumoral pela libertação de quimiocinas pró-angiogénicas e de outros fatores. (106) Por outro lado, os linfócitos têm um papel fundamental na supressão de tumores.(106) Um decréscimo no número de linfócitos prejudica a resposta imune antitumoral do hospedeiro e confere um mau prognóstico.(106)

O NLR, calculado pela divisão do número de neutrófilos pelo número de linfócitos é considerado por diversos estudos um marcador de resposta imunológica. Evidências apontam que um NLR elevado está significativamente associado um mau prognóstico em doentes com CCR. (104,106).



F

Figura VIII – Cascata de adesão leucocitária, anexo 1.

As etapas que levam à transmigração de leucócitos através da células endoteliais. As moléculas de adesão mais importantes estão indicadas em caixa.

4.1.2 Imunidade Adquirida

O reconhecimento pelas células imunitárias inatas desencadeia uma série de mecanismos associados ao processo inflamatório que culminam na ativação de uma resposta imunitária adquirida ou adaptativa.(13)

A imunidade adquirida assume um elevado grau de especificidade aos antígenos, reconhecendo-os e eliminando-os. (88) Numa situação de neoplasia, a imunidade adquirida irá corresponder a uma resposta específica dirigida a um determinado antígeno associado ao tumor.(107)

A imunidade adquirida apresenta essencialmente quatro atributos característicos: especificidade antigénica, diversidade, memória e reconhecimento *self/non-self*.(88) Uma resposta adquirida efetiva requer a cooperação entre dois importantes grupos de células – os LT e as APCs.(88)

4.1.2.1 Linfócitos B

Os linfócitos B têm como precursores as células-tronco hematopoiéticas e, após maturação na medula óssea, cada linfócito expressa na sua membrana um único receptor de antígenos que reconhece epítomos antigénicos específicos. (88,93,108)

Cada receptor de antígenos, ou receptor do linfócito B, corresponde a um anticorpo ligado à membrana.(88) Desta forma, as diferentes populações de LB podem ser identificadas pela expressão de anticorpos de superfície específicos.(108)

O reconhecimento e ligação de um antígeno ao anticorpo de um linfócito B naíve, induz a uma rápida divisão celular do LB com posterior diferenciação em linfócito B memória e linfócito B efector ou plasmócito.(88) O anticorpo de membrana expresso pelos LB memória é igual ao do LB do qual é proveniente. (88) Os plasmócitos produzem anticorpos que na sua maioria são excretados, possuindo poucos ou nenhuns ligados à membrana.(88)

É função dos LB a apresentação de antígenos para a iniciação da resposta imunitária pelos linfócitos T.(93) Os LB podem ainda desempenhar um papel significativo como células reguladoras tanto em situações de infecção como de autoimunidade, pela produção de citocinas supressoras: IL-4, IL-10 ou TGF- β . (93)

4.1.2.2 Linfócitos T

Os Linfócitos T são produzidos na medula óssea, completando o seu processo e maturação no timo.(88). Durante este processo, os LT passam a exprimir, na sua membrana, uma molécula de ligação ao antígeno única designada por TCR.(88)

Encontram-se definidas duas subpopulações de LT: TH e TC. (88). Estas células podem ser distinguidas pela presença das glicoproteínas de membrana CD4 ou CD8.(88). Geralmente, os LT que expressam CD4 funcionam como linfócitos TH e os que expressam CD8 funcionam como linfócitos TC. (88). Contrariamente aos LB que apresentam capacidade de reconhecer os antígenos livres, os TCRs apenas reconhecem antígenos ligados a proteínas de membrana celular, conhecidas como moléculas do MHC.(88)

As moléculas de MHC I são expressas pela maioria das células nucleadas, enquanto que as MHC II são unicamente expressas pelas APCs. (88) Quando um linfócito T naíve reconhece um complexo antígeno-MHC, verifica-se uma

proliferação do linfócito T e diferenciação em LT memória e LT efector (figura IX).(88)

Após o reconhecimento e interação de um linfócito TH com o complexo antigénioMHC II, a célula é ativada e torna-se numa célula efectora que secreta citocinas.(88) Estas citocinas desempenham um papel importante na ativação dos LB, LT, macrófagos e nas restantes células que participam na resposta imunitária.(88) Os linfócitos TH podem ser subdivididos em linfócitos TH1 e TH2. (93) Os linfócitos TH 1 segregam citocinas e dão suporte aos linfócitos TC pela produção de IL-2, necessária para a proliferação dos linfócitos T CD8+. (93) Já os linfócitos TH2 segregam principalmente IL-4, IL-5 e IL-10, e limitam a proliferação dos linfócitos TC.(93)

Os linfócitos TC medeiam a destruição das células tumorais pela libertação de componentes líticos via interação célula-célula.(93) A perforina, uma proteína citolítica encontrada nos grânulos de linfócitos T CD8+ e em células NK, e as proteases enzimáticas, incluindo a granzima B, são segregadas e promovem a ruptura da membrana celular e a apoptose das células tumorais. (93)

Os linfócitos T reguladores (Treg) têm sido definidos como uma população de LT que suprime uma resposta imune (93) Os linfócitos Treg foram categorizados em duas classes principais com base na sua ontogenia: Treg de ocorrência natural (nTreg), que se desenvolvem no timo e estão presentes no organismo humano desde um período pós-natal precoce, e Treg que podem surgir na periferia (93). Os nTreg têm origem nas células CD4+ e são caracterizados pela elevada expressão do receptor IL-2 de cadeia α (CD25), CTL-4, GITR e em alguns casos pela coexpressão da FOXP3. (93) Os linfócitos Treg funcionam de forma a manter a homeostase e a limitar a inflamação aguda. (93) Estas células interferem com a ativação dos LT e podem afectar a função antitumoral das células efectoras através da secreção de TGF- β e de IL-10.(93)

Estudos recentes associam a infiltração do tumor por linfócitos Treg a um mau prognóstico, contudo o aumento dos níveis de linfócitos Treg no CCR tem sido

associado a um prognóstico favorável (93) Mais estudos são requeridos para para avaliar o papel dos Treg no contexto tumoral.

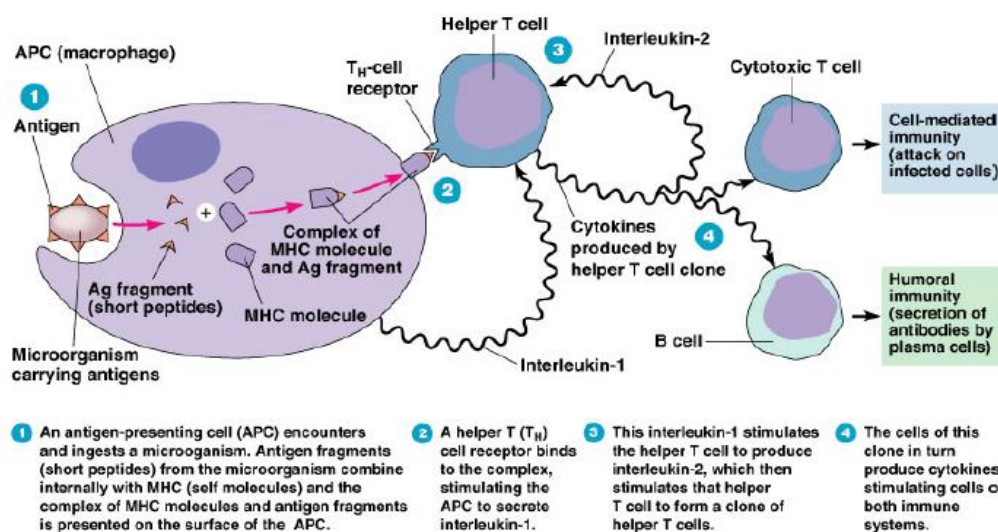


Figura IX – Resposta imunitária mediada por linfócitos T via APC, anexo 16

4.2 Imunoterapia

Um grande número das abordagens terapêuticas direcionadas ao cancro tem tido ao longo dos anos como base, a activação das respostas imunes inata e adaptativa (figura X). (90)

Neste âmbito surge uma nova área de desenvolvimento, a Imunoterapia, relacionada com as evidências da intervenção do sistema imunitário na regulação dos mecanismos de controlo e proliferação tumoral. (14,109) Dentro das várias estratégias inovadoras desenvolvidas neste campo destacam-se as vacinas anti-tumorais, os inibidores *checkpoint*, a terapêutica por citocinas, *Toll-like receptors* (TLR's), *ACT* (*adoptive cell transfer*) e os anticorpos monoclonais.(14,109)

Estudos recentes têm investigado os efeitos da associação de terapêuticas convencionais e a imunoterapia.(110,111)

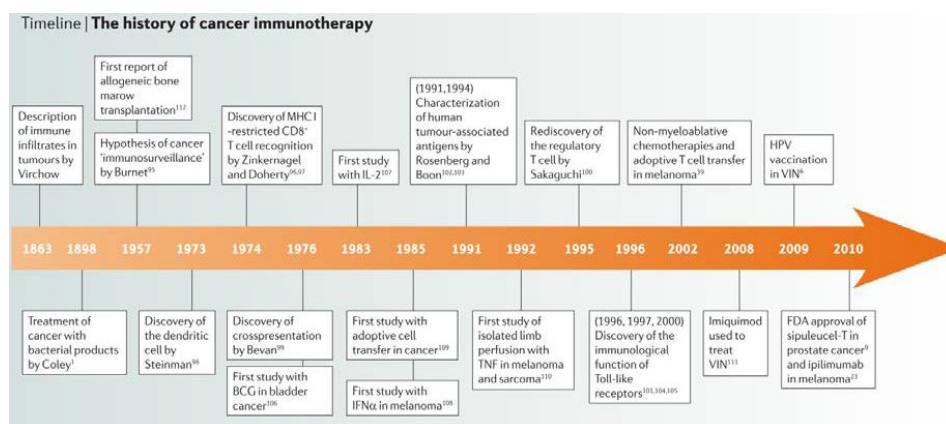


Figura X – Cronograma dos avanços mais importantes na Imunoterapia anti- tumoral, anexo 17

4.2.1 Vacinas

As vacinas anti-tumorais assumem um papel importante no combate ao cancro, uma vez que facilitam a resposta imunitária.(14,15) O desenvolvimento desta abordagem terapêutica assenta nas diferenças encontradas entre os marcadores celulares tumorais e os marcadores expressos nas células ditas normais.(14,15)

As células neoplásicas são dotadas de mecanismos que lhes permitem não ser reconhecidas pelo sistema imunitário.(14,15) Um dessas estratégias baseia-se na ocultação de marcadores antigénicos. (14,15) As vacinas permitem ultrapassar este problema na activação e manutenção da resposta anti-tumoral. (14,15) Na Tabela VIII estão referidas as várias estratégias de vacinação imunoterapêutica para o CCR.

4.2.1.1 Vacinas autólogas

A abordagem terapêutica das vacinas autólogas recorre às células tumorais irradiadas do próprio paciente. (112,113) A irradiação de células cancerígenas interrompe o processo de divisão celular, mas permite que permaneçam metabolicamente activas.(112,113) Além disso esta estratégia permite que as vacinas englobem todos os antígenos tumorais específicos para cada paciente (15)

A maioria dos marcadores tumorais constituintes das vacinas autólogas são igualmente expressos nas células normais o que pode significar um decréscimo na

imunogenicidade destas, por falta de especificidade.(114) Este motivo pode justificar a eficácia limitada das vacinas até à data.(114)

Têm sido desenvolvidos métodos para melhorar a imunogenicidade das vacinas.(115) A inoculação de organismos bacterianos vivos directamente em tumores para induzir uma resposta antitumoral pelo hospedeiro foi descrita pela primeira vez por William B. Coley em 1893. (116) Na década de 70 vários estudos demonstraram que a inoculação de organismos viáveis do bacilo Calmette -Guérin (BCG) no melanoma cutâneo metastásico resultava na regressão não só dos nódulos inoculados, como também dos que não tinham sido sujeitos a inoculação.(116) O tratamento resultaria da ampliação da imunidade, com a produção de títulos crescentes de anticorpos, (Ac's), anti-melanómicos. (116)

Ensaio clínico de fase II e fase III com vacinas autólogas associadas à vacina BCG como terapêutica adjuvante revelaram um aumento de sobrevida em pacientes com CCR.(14) Com base nesta evidência, foram conduzidos ensaios de fase III em 412 pacientes com CCR em estadio II e III por forma a avaliar o benefício da ressecção cirúrgica associada à vacina.(115) Em 79% dos pacientes submetidos à terapêutica adjuvante houve manifestação de reacções locais.(115) O follow up destes doentes não revelou benefício clínico significativo, contudo nos pacientes que receberam a vacina e desenvolveram hipersensibilidade cutânea tardia maior ou igual a 10 mm a sobrevida livre de doença a 5 anos foi de 84,6% em detrimento dos 45% para aqueles com manifestações inferiores a 5 mm.(115) Neste estudo não houve avaliação das respostas específicas de Ac's para o CCR, pelo que não está claro se uma reacção cutânea pode servir como marcador de resposta.(115)

Outra das estratégias no desenvolvimento de vacinas é a sua administração conjuntamente com GM-CSF (factor estimulador de colónias de macrófagos-granulócitos). (117) Embora os ensaios clínicos conduzidos não tenham revelado resultados significativos no aumento de sobrevida dos doentes, a inoculação da vacina

revelou um aumento da imunidade anti-tumoral em melanoma e cancro do pulmão.(117,118)

Uma outra via exploratória no âmbito do desenvolvimento de vacinas recorre ao uso de células tumorais autólogas irradiadas associadas a células infectadas pelo vírus NDV (virus da doença de newcastle). (119) Um estudo de fase II administrou a vacina a 23 pacientes com CCR após submetidos a resecção de metástases hepáticas.(14) A vacina foi bem tolerada e o follow up a 18 meses revelou 61% de recorrência nos pacientes vacinados, face aos 87% dos pacientes do grupo de controlo.(14)

Mais estudos são necessário nesta área por forma a melhorar a imunogenicidade das vacinas e identificar quais os pacientes que mais beneficiarão desta terapêutica.(14)

4.2.1.2 Vacinas à base de péptidos

As vacinas à base de péptidos consistem na identificação de péptidos com 8-11 aminoácidos característicos das células tumorais e síntese de epítomos capazes de induzir uma resposta antitumoral específica aos antígenos associados ao tumor (TAA's).(120)

As vacinas à base de péptidos são simples, seguras, estáveis e económicas (15) No entanto, vários estudos têm revelado problemas que restringem a eficácia de vacinas peptídicas tais como a restrição-HLA que limita as vacinas peptídicas para haplotipos HLA específicos, perda de função APC das células dendríticas em pacientes em estadios avançados de CCR e microambientes tumorais, onde células imunossupressoras, como Tregs existem. (120) O HLA, ou antígeno leucocitário humano, corresponde ao complexo genético, situado no locus 21 do braço curto do cromossoma 6 que codifica o MHC humano.(88)

As células tumorais associadas ao CRC expressam inúmeros TAA's: antígeno carcinoembrionário (ACE), mucina-1 (MUC-1), receptor do factor de crescimento

epidérmico (EGFR), gonadotrofina coriônica β -humana (β -hCG), antígeno tumoral de Wilms 1 (WT1), survivina 2-B, p53, entre outros....(14,15) Todos estes TAA's são alvos potenciais para imunoterapia.(14,15) Vacinas à base de péptidos visando estes TAA's podem vir a ser uma abordagem útil para imunoterapia em pacientes CRC.(14,15)

Vários ensaios clínicos têm conseguido gerar respostas imunitárias específicas significativas para os diferentes TAA'S, contudo só alguns desses estudos demonstraram correlação positiva com o aumento de sobrevida dos doentes.(121)

Num ensaio clínico de fase II, 77 pacientes foram inoculados com uma vacina composta pelo grupo COOH terminal da β -Hcg em conjugação com a toxina da difteria.(121) Do total de doentes submetidos à vacina, 73% desenvolveram anticorpos anti-Hcg. (121) Pacientes com níveis de anticorpos doseados maior que a mediana apresentaram uma média de sobrevida de 45 semanas face às 24 semanas dos pacientes com níveis de anticorpo inferiores à mediana. (121) Mais estudos são requeridos para avaliar a correlação entre a sobrevida e a concentração de anticorpos anti-Hcg. (121)

Têm sido desenvolvidas várias estratégias com o intuito de superar as limitações apresentadas pelas vacinas peptídicas.(122) Uma dessas estratégias visa o uso de múltiplos epítomos com sequências de aminoácidos mais longas(122).

Um ensaio clínico de fase II testou a eficácia da vacina IMA910, constituída por 13 péptidos associados a tumores (TUMAP'S) presentes naturalmente nos complexos MHC dos CCR. (122) Pacientes com HLA-A* 02 CRC clinicamente estáveis após 12 semanas de terapia à base de oxaliplatina, foram submetidos terapêutica de dose única de ciclofosfamida em baixa concentração e imunizados com IMA910 em associação com GM-CSF.(122) Cerca de 71% dos doentes desenvolveu resposta imunitária clínica significativa.(122) Pacientes que desenvolveram respostas imunitárias por aumento do número de células T CD8+ contra vários TUMAPs obtiveram melhores taxas de controle de doença. (122)

Pesquisa e estudos adicionais são requeridos com vista à identificação dos antígenos específicos do CCR para obtenção de melhores resultados clínicos.(14)

4.2.1.2 Vacinas de células dendríticas

As DCs desempenham um papel fundamental nas principais ações concertadas do sistema imunitário. (15) Processam antígenos em péptidos antigénicos, que são apresentados na superfície da célula pelas moléculas de MHC e reconhecidos pelos receptores dos linfócitos T. (15) A eficiente apresentação de antígenos pelas moléculas de MHC de classe I e de classe II nas DCs é essencial para desencadear respostas imunitárias específicas para o tumor. (15)

Até à data várias estratégias têm sido desenvolvidas no sentido de internalização de TAA's pelas DC's com vista a gerar respostas significativas anti- tumorais por parte dos dos linfócitos T citotóxicos (CTL).(14,15) Actualmente a estratégia de síntese destas vacinas envolve a colheita de DC's imaturas do paciente e a sua infusão com péptidos derivados de TAA's, lisados de células tumorais, células tumorais apoptóticas, ARN tumoral, de forma a amadurecerem até serem transferidas para o paciente (14,15).

O ACE é um TAA expresso pela maioria dos CRC, embora pouco imunogénico.(123) Um ensaio de fase II, em que o péptido foi previamente alterado por forma a aumentar a sua capacidade antigénica e associado ao ligando do receptor Flt3, foi conduzido em 12 doentes com CCR com resultados positivos.(123) Dois dos doze pacientes desenvolveram resposta imunitária com respectiva estabilização da patologia por 3 e 6 meses; dois pacientes apresentaram estabilização por mais de 10 meses e um dos pacientes uma resposta mista com alguma regressão metastásica. Todas as vacinas se revelaram seguras e bem toleradas. (123)

4.2.1.2 Vacinas de antígenos virais/ bacterianos

As vacinas recombinantes de vectores virais/bacterianos têm revelado um enorme potencial como terapêutica anti- tumoral.(14,15,124) Ao contrário das vacinas autógas, dendríticas e peptídicas, estas vacinas são capazes de gerar uma resposta específica e substancialmente relevante com significância clínica.(14,124)

A principal função do sistema imunitário é a protecção face a agentes estranhos ao organismo.(88) Tendo em consideração este facto, é possível aumentar a imunogenicidade da vacina incorporando vectores patogénicos.(14,124) Contudo esta estratégia acarreta algumas desvantagens como: custos elevados, aumento do potencial patogénico e aumento do potencial de inserção de alterações genéticas (mutagénese). (14,124)

Os vírus são por natureza imunogénicos, infectam APC's e expressam TAA's.(125) A imunogenicidade dos vectores virais actua como adjuvante potenciando a resposta imunitária específica aos TAA's.(125)

Vários estudos têm avaliado o efeito da inoculação de vacinas recombinantes virais como terapêutica adjuvante. (126–128)

Um ensaio de fase II em pacientes com CRC metastásico examinou a eficácia da quimioterapia combinada com a vacina ALVAC-CEA-B7 (associação do vírus *canarypox* sem capacidade replicativa com o ACE e a molécula B7 co-estimuladora de célulasT) (128) Em 50% dos pacientes inoculados foi observado uma resposta imunitária celular anti-ACE com significado clínico.(128)

Um ensaio de fase I em pacientes com cancro de elevada expressão ACE foi conduzido em 58 doentes.(126) Estes doentes foram inoculados com uma vacina do vírus folpox associada ao ACE e TRICOM (associação de 3 moléculas co-estimuladoras das células T [B7, ICAM-1, LFA-3]). (126) Os resultados obtidos revelaram uma estabilização da patologia em 40% dos pacientes num periodo de 4 meses. (126)

Todos estes estudos são indicativos da existência de evidência pré-clínica na terapêutica com vacinas recombinadas, contudo mais estudos, em particular na avaliação da sua eficácia em doentes com CRC, são necessários para determinar se esses epitopos podem ser incorporados com sucesso em estratégias de vacinação.(126,128)

Tabela VIII- Estratégias de vacinação para o CCR , anexo 18

Vaccine	Clinical response	Immunological response	Ref.
Peptide			
Survivin-2B	PR (1/15) SD (3/15) PD (11/15) Temporary decrease of CEA level 40% (6/15)	Increase of Survivin-2B-specific CTL frequency DTH 40% (6/15)	[48]
Combination chemotherapy with peptide vaccine against RNF43 and TOMM34	SD (16/19) PD (3/19)	8 of 21 patients exhibited antigen-specific CTL responses to both RNF43 and TOMM34, and 12 patients exhibited CTL responses to one of the peptides only	[52]
13-mer mutant ras	Of nine patients who completed all six vaccinations, seven patients showed no remaining evidence of disease	Two CRC patients showed immunological responses, and the antitumor immune response was significantly associated with prolonged overall survival	[53]
β-hCG	Prolongation of survival in patients with a high level of anti-peptide antibodies	Induction of serum anti-peptide antibody (56/77)	[46]
SART3	Diagnosis at 5 mo after first vaccination: SD (1/19) PD (10/19)	Increased CTL activity (2/11), induction of serum anti-peptide IgG (2/12), IgE (5/12), DTH (0/12)	[45]
A set of 10 overlapping p53 synthetic long peptides		Induction of p53-specific CD4+ and CD8+ T-cell responses (9/10), maintained p53-specific CTL reactivity for at least 6 mo (6/9)	[50]
DC			
DC pulsed with CEA peptide or CEA mRNA	Disease stabilization was observed in several patients	The majority of CRC patients demonstrated induction of CEA-specific T cell responses	[60-65]
DCs pulsed with CEA-derived altered peptides combined with the adjuvant Flt3 ligand	2 of 12 patients exhibited SD for 3 and 6 mo; 2 patients exhibited CR for more than 10 mo; 1 patient had a mixed response with some regression of liver metastases	Expansion of CD8+ T cells that recognize both the native and altered epitopes and possess an effector CTL phenotype	[64]
Whole tumor cell			
Autologous tumor cells combined with BCG	No significant clinical benefit was seen with whole tumor cell vaccines in surgically resected patients with stage II or III CRC	When treatment compliance was evaluated, the trend indicated benefits from vaccination in terms of disease-free survival ($P = 0.078$) and overall survival ($P = 0.12$)	[68]
NDV-infected irradiated autologous tumor cells	A randomized phase II study of 50 patients with resectable CRC liver metastases demonstrated that vaccination with NDV-infected whole tumor cell did not significantly improve overall survival.	DTH (21/31)	[74,75]
Viral vector			
Replication-defective recombinant fowlpox and vaccinia viruses encoding the CEA antigen and TRICOM (B7.1, ICAM-1, and LFA-3)	SD (3/9)	Induction of CEA-specific CTL (3/9)	[79]
Combination chemotherapy and vaccination with a nonreplicating canarypox virus (ALVAC) expressing the CEA and T-cell costimulatory molecule B7.1 (ALVAC-CEA/B7.1)	Objective response (42/118)	Increases in CEA-specific T cells were detected in patients treated with chemotherapy and booster vaccination	[80]

4.2.2 Inibidores checkpoint

Uma dos desenvolvimentos mais relevantes da Imunoterapia na última década refere-se ao papel dos inibidores de checkpoint na terapia anti-tumoral.(14)

Os inibidores de checkpoint são Ac's monoclonais com capacidade moduladora sobre as vias de sinalização MHC-TCR ao inibirem determinadas moléculas com função

supressora do sistema imunitário.(129) Exemplos dessas moléculas são: PD-1; PD-L1/2, CTLA-4, LAG-3, TIM-3, BTLA. (129) Na figura XI estão representadas algumas das estratégias de inibição de checkpoints e na tabela IX os principais ensaios até à data realizados em CRC com inibidores de checkpoint.

4.2.2.1 CTLA-4

O CTLA-4 é um receptor encontrado na superfície de células T CD8 + naïve e células T CD4+ naïve.(130) A sua principal função prende-se com o impedimento da diferenciação das células T por ligação à proteína periférica de membrana B7 das células APC.(130) A proteína B7 permite a activação e posterior diferenciação das células T por ligação ao receptor CD28.(130)

Ipilimumab e Tremelimumab são 2 anticorpos inibidores do receptor CTLA- 4 para uso humano.(14,131) Em 2011 o Ipilimumab foi aprovado pela FDA para uso em melanoma metastático.(132) Contudo os mesmos resultados não foram obtidos para o CRC. (131)

Um ensaio clínico de fase II com avaliou a administração de tremelimumab por IV em 47 pacientes com CRC metastático quimiorrefractário. (131) Os resultados obtidos revelaram uma mediana de sobrevida de 69 dias. (131) A sobrevida a 6 meses sem progressão foi de 2,1%.(131) Foram registados efeitos de toxicidade, com manifestações de diarreia de grau 3. (131) Face a estes resultados o estudo do bloqueio de CTL4 em monoterapia não têm sido alvo de estudos alargados. (131)

4.2.2.2 PD-1

O PD- 1 pertence à mesma família de receptores CD28, tal como o CTLA-4. (133) O PD-1 induz exaustão nas células T efectoras, actuando como mediador apoptótico.(133) Encontra-se sob-expresso em estados de inflamação crónica e em células tumorais. Inibidores de PD-1 têm revelados resultados clínicos relevantes no

carcinoma da bexiga, das células pequenas do pulmão e do rim.(14,131) Alguns destes inibidores: Nivolumab, Pembrolizumab, Durvalumab.(131)

O Nivolumab é um anticorpo monoclonal IgG4 que se liga e inibe o PD-1.(131) Num estudo de fase I para avaliar a inibição do Nivolumab no receptor PD-1, 296 pacientes foram tratados com o anticorpo em várias doses (1 mg / kg, 3 mg / kg, 10 mg / kg) a cada 2 semanas. (134) As respostas face a esta terapêutica foram 28%, 18% e 27% para o melanoma, cancro das células pequenas do pulmão e cancro renal respectivamente.(134) Não foi demonstrada uma relação dose-resposta clara.(134)

Num outro estudo, em 42 amostras de tumores submetidas a análise imuno-histoquímica para a expressão de PD-L1, observou-se uma taxa de resposta de 36% em tumores positivos para PD-L1 e uma taxa de resposta de 0% em tumores PD-L1-negativos.(134) Das 42 amostras de tumores submetidas a análise, 19 provinham de CRC's. (134)

O Pembrolizumab é um Ac monoclonal IgG4 que liga e inibe a PD-1, tal como o Nivolumab .(131) Um estudo de fase II conduzido recentemente em pacientes com CRC metastásico quimiorrefractário revelou resultados clínicos positivos.(135) Neste estudo foram avaliadas as respostas do Ac em pacientes com neoplasias metastásicas quimiorrefractárias MSI-H ou MSS (estabilidade de microsatélites). (135) Dos 10 pacientes com CRC MSI-H, 40% desenvolveram uma resposta imunitária com 78% desses pacientes a experimentarem estabilização da patologia, dois dos quais a 12 semanas(135).

Dada a evidência associada ao uso deste anticorpo na terapêutica quer de tumores MSI-H, quer de tumores MSS, vários estudos têm sido efectuados. Dois deles, o KEYNOTE-164 (NCT02460198) e o KEYNOTE-177 (NCT02563002) encontram-se ainda a decorrer e pretendem clarificar o papel da terapêutica do Pembrolizumab em CRC metastásicos e quimiorrefractários com MSI-H ou dMMR (deficiência de reparação mismatch) do ADN (131)

O Durvalumab é outro dos Ac's inibidores do PD-L1.(131) Está a decorrer um ensaio de fase II para avaliar o Durvalumab em pacientes com CRC MSI-H localmente avançado ou metastático com um aumento de densidade de linfócitos infiltrantes de tumores (TILs) (131)

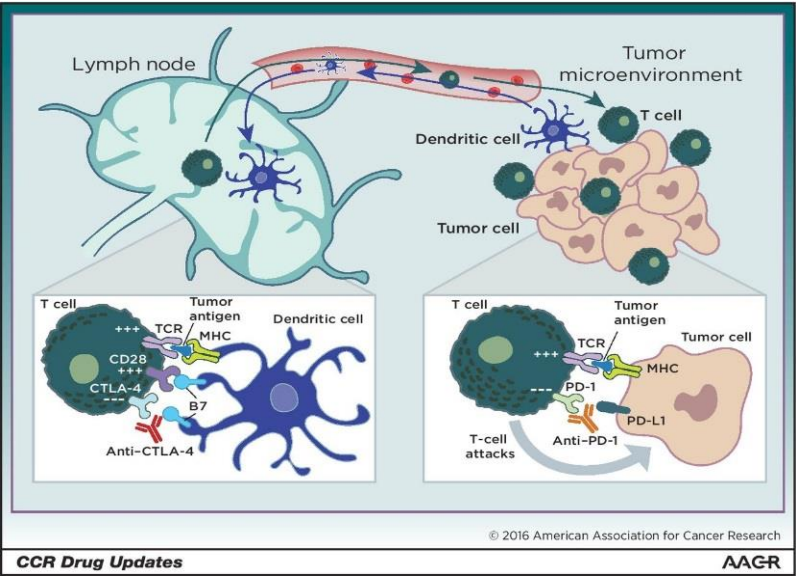


Figura XI- Mecanismo de inibição dos checkpoint's CTLA-4 e PD-1, anexo 19

Tabela IX- Ensaios clínicos de AC's monoclonais como inibidores de checkpoint em CCR, anexo 20

Drug(s)	Target	Reference	Population	Patients	Response Rate
Pembrolizumab	PD-1	Le et al ²¹	MSS CRC	28	0%
			MSI-H CRC	25	57%
			MSI-H non-CRC	30	53%
Tremelimumab	CTLA-4	Chung et al ²²	Refractory CRC	49	2%
Nivolumab	PD-1	Topalian et al ²³	Refractory CRC	19	0%
BMS-936559	PD-L1	Brahmer et al ²⁷	Refractory CRC	18	0%
Atezolizumab + Bevacizumab	PD-L1	NCT01633970 ²⁴	Refractory CRC	14	7%
Atezolizumab + FOLFOX/bevacizumab			Metastatic CRC (70% first line)	30	40% (total) 48% (first-line)
Nivolumab	PD-1	NCT02060188 ²⁶	MSS CRC	20	5%
Nivolumab			MSI-H CRC	47	26%
Nivolumab + Ipilimumab	PD-1 + CTLA-4		MSI-H CRC	30	33%
Atezolizumab + Cobimetinib	PD-L1 MEK	NCT01988896 ²⁰	Refractory CRC (30% MSS, 70% unknown)	23	17% (3 MSS, 1 unknown)

CRC indicates colorectal cancer; CTLA-4, cytotoxic T-lymphocyte antigen-4; MSI-H, microsatellite instability-high; MSS, microsatellite stable; PD-1, programmed cell death-1; and PD-L1, programmed death ligand-1.

4.2.3 Terapêutica por citocinas

As citocinas são proteínas ou glicoproteínas que actuam de forma parácrina ou autócrina como mediadores da resposta imunitária.(14,15) As principais citocinas atualmente em uso ou em avaliação para terapia anti-tumoral são: IFN- α , a IL-2, GM-CSF e IL-12.(14,15) A IL-2 tem aprovação pela FDA no tratamento do melanoma e do carcinoma das células renais. (14,15)

Os estudos para avaliação do uso de citocinas no tratamento do CRC têm sido escassos.(14) Um estudo de fase I de IL-10 peguilada, administrada diariamente por via subcutânea por 4 meses a 33 pacientes com tumores sólidos avançados (incluindo quatro Pacientes CRC), revelou ser relativamente segura e apresentou um perfil de estimulação de LTh1 sustentado. (136) Um pos pacientes apresentou estabilização da doença por mais de 40 semanas (136)

A terapia com citocinas é uma abordagem que carece de mais estudos, em particular ao nível do CRC, e que pode vir a ser efectiva em combinação com outras terapêuticas(14,136)

4.2.3 Agonistas TLR

A grande maioria das abordagens em imunoterapia anti-tumoral foca-se na imunidade adquirida, mas algumas abordagens recentes, incluindo agonistas TLR (toll like receptor) visam a imunidade inata.(90)

Os TLRs pertencem a uma classe de glicoproteínas transmembranares do tipo I.(137) Estes receptores apresentam três domínios: um domínio extracelular N-terminal que consiste em repetições ricas em leucina (LRR) e que reconhece padrões moleculares associados a patogénios (PAMPs) e padrões moleculares associados a perigo (DAMPs, libertados a partir de células sob stress ou em necrose), um domínio transmembranar e um domínio intracelular/citoplasmático C-terminal homólogo ao receptor Toll/Interleucina-1 (TIR).(137,138)

Os TLRs reconhecem padrões moleculares associados a patógenos ou a organismos comensais da flora intestinal, desencadeando a activação de cascatas de sinalização intracelular que conduzem à indução de genes envolvidos na defesa antimicrobiana do hospedeiro. Esses genes podem codificar citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas.(138,139).

Actualmente encontram-se identificados dez tipos de TLRs em humanos. (137,138) Os TLRs podem localizar-se na superfície da célula (TLR1, 2, 4, 5, 6 e 10) ou nos endossomas (TLR3, 7, 8 e 9). (137) Os TLRs são constitutivamente ou indutivamente expressos por um número de diferentes tipos de células no TGI, incluindo células epiteliais intestinais, monócitos, macrófagos, LT, DCs, miofibroblastos, células endoteliais e adipócitos. (140)

Vários estudos em CRC têm direccionado o seu foco para o TLR-9, dado o seu papel protector na transformação neoplásica da mucosa colorectal. (141) Vários agonistas do TLR-9, principalmente sob a forma de oligonucleotídeos (ODNs) CpG, moléculas que mimizam as CpGs (sequências de nucleótidos de citosina-guanina) naturais, têm sido desenvolvidos e explorados para o tratamento de tumores.(142)

A contribuição da sinalização desencadeada pelo TLR-9 para a imunidade antitumoral encontra-se bem estabelecida.(142) O microambiente tumoral é caracterizado pela presença de vários tipos de células imunossupressoras, entre as quais se destacam as células supressoras derivadas da linhagem mieloide (MDSCs). (142) Níveis elevados de MDSC's acumulam-se no tumor e nas suas proximidades, inibindo a atividade de LT e de células NK. (142)

Estudos recentes indicam que a administração directa nos tecidos tumorais de ODNs-CpG pode reduzir a atividade imunossupressora das MDSCs monocíticas, pela diminuição da sua capacidade em suprimir a função dos LT e pela indução da sua diferenciação em macrófagos com capacidade tumoricida. (142) Por outro lado, há um

crescente conjunto de dados que demonstram que a atividade agonista antitumoral do TLR-9 não está apenas relacionada com a modulação da resposta imune. (142)

Nos últimos anos demonstrou-se que a sua atividade antitumoral é também atribuível aos seus efeitos directos sobre o comportamento de células tumorais.(142) Num estudo observou-se que o TLR-9 interage com o EGFR e que o tratamento com oligonucleotídeos imunomoduladores (IMOs) foi capaz de interromper esta interação, interferindo assim com a sinalização do EGFR e, subsequentemente, com o VEGF. (142)

Os agonistas TLR-9 da próxima geração, como o MGN1703, têm apresentado resultados promissores.(143) Num ensaio clínico de fase II avaliou-se o uso de MGN1703 como terapia de manutenção em pacientes com CRC metastático.(144) O MGN1703 mostrou ser bem tolerado e um efeito significativo no aumento da PFS (progression free survival) em pacientes com concentrações de antigénio carcinoembrionário normalizadas e, em pacientes com elevado número de células NK diferenciadas. (144)

Outros estudos para avaliação do papel MGN1703 têm sido efectuados ou ainda estão a decorrer, como é o caso do do ensaio clínico de fase III IMPALA em pacientes com CRC metastático (NCT02077868).(145)

4.2.3 Terapêutica por ACT

A Imunoterapia pode ser dividida em dois ramos: Imunoterapia Passiva e Imunoterapia Activa.(88,146) A imunoterapia Passiva consiste na administração do componente activo do sistema imunitário no paciente com cancro; a Imunoterapia Activa pretende gerar um aumento da resposta imunitária anti-tumoral no próprio paciente.(88,146) A transferência de células adoptivas (ACT) é uma forma de imunoterapia passiva que envolve a transferência de células T efectoras para o paciente.(14,15) As abordagens mais bem-sucedidas para ACT envolvem a colheita

células T autólogas de um tumor (TIL's), seleccionando aquelas com melhor actividade tumoral e, seu desenvolvimento em laboratório para posteriormente as reinfundir no paciente (figura XII). (147) Esta estratégia terapêutica permite ultrapassar certas limitações na diferenciação e estimulação das células T em vivo, como a inibição e supressão imunitárias. (147)

Esta abordagem tem revelado resultados positivos em certos tipos de tumores altamente imunogénicos, como é o caso do melanoma. (148) Os principais inconvenientes na aplicabilidade desta terapêutica são: fraca memória imunológica, técnica morosa e onerosa, baixa persistência in vivo das células reinfundidas.(124)

Tentativas de melhorar a eficácia do ACT incluem a modificação genética das células T para expressar elevado reconhecimento para os TCRs (57). Os CAR (Chimeric Antigen Receptors) aliam a especificidade de um anticorpo associado à citotoxicidade e memória imunológica de uma célula T.(149) Ensaios clínicos com células T CAR anti-CD19, uma glicoproteína presente em 95% das neoplasias das células B, têm sido bem sucedidos desde 2010. (149)

Num ensaio de fase I, em três pacientes com CRC metastásico quimiorrefractário, células T autólogas foram geneticamente modificadas para expressar um TCR murino ant-ACE.(150) Em todos os pacientes intervencionados os níveis séricos de CEA diminuíram, com um dos pacientes a apresentar regressão metastásica no fígado e no pulmão.(150) No entanto todos os 3 pacientes desenvolveram colite transiente inflamatória grave.(150)

4.2.3 Terapêutica por anticorpos monoclonais

A terapêutica por anticorpos monoclonais (mAc's) tem sido amplamente usada no tratamento de CRC metastásico.(14,15) Vários mAc's encontram-se aprovados para tratamento do CRC: Cetuximab, Bevacizumab, Panitumumab, Aflibercept. (151–154)

O Regorafenib, um inibidor da tirosina quinase também se encontra aprovado para uso em CRC metastático refractário.(155)

As principais desvantagens desta terapêutica prendem-se com os elevados custos de produção e o desenvolvimento de reacções de hipersensibilidade por reconhecimento da proteína externa murina.(156)

Vários ensaios clínicos têm sido realizados envolvendo o estudo de mAc's para o CRC (tabela X).(14) O Bevacizumab, que se liga selectivamente ao VEGF humano, mostrou boa efectividade em pacientes CRC sem mutações no protogene KRAS. (157)Também o Cetuximab e o Panitumumab, mAc's anti-EGFR, mostraram benefícios clínicos em pacientes CRC sem mutações no protogene KRAS. (158)

Tabela X- Ensaios clínicos em curso de mAc's para CRC, anexo 21

Target	Antibodies	Trial identifier
EGFR	SCT200	NCT02211443
	Nimotuzumab	NCT02508077
	Sym004	NCT00972465
	GC1118	NCT01899118, NCT02083653, NCT02352571
VEGF	Sevacizumab	NCT02453464
Tumor associated antigens	NPC-1	NCT01040000
CD137	Urelumab	NCT01471210, NCT02110082
4-1BB (CD137, TNFRSF9)	PF-05082566	NCT01307267
CD27	CDX-1127 (varilumab)	NCT01460134
Anti-oxidized macrophage migration inhibitory factor	Imalumab (Bax69)	NCT02448810
CEACAM1	CM-24	NCT02346955

4.2.3 Terapêutica combinada

Dada a complexidade envolvida na etiopatogenia tumoral, novas abordagens terapêuticas têm sido estudadas.(14,15) Ensaios pré-clínicos têm revelado resultados positivos na combinação de várias terapêuticas como a quimioterapia, ablação por radiofrequência, vacinas e inibidores de checkpoint.(14,15)

Um estudo de fase I envolvendo 53 pacientes com melanoma metastático avaliou a associação do Ipilimumab e Nivolumab. (159) Cerca de 53% dos pacientes responderam à terapêutica, com 80% a experimentar uma redução tumoral. (159)

A imunoterapia combinada é indiscutivelmente, à medida que vão surgindo novos estudos e novos avanços científicos, uma das opções terapêuticas futuras.(14,15) O grande desafio actual prende-se com os perfis de toxicidade subjacentes a esta terapêutica. (160) Mais estudos são necessários, em particular estudos em doentes com CRC, por forma a concluir sobre a segurança e eficácia desta abordagem.(14)

Na tabela XI estão patentes alguns ensaios clínicos de terapêutica combinada com inibidores de checkpoint PD1/L1.(131)

Tabela XI- Ensaios clínicos de terapia combinada para inibidores PD1/L1, anexo 22

Experimental Arms	PD-1/L1 Partner	Identifier	Description
Atezolizumab Cobimetinib Bevacizumab	MEK VEGF-A	NCT02876224	Phase I - Metastatic CRC
Nivolumab Ipilimumab Cobimetinib	CTLA-4 MEK	NCT02060106	Phase I/II - Metastatic CRC
Durvalumab Selumetinib	MEK	NCT02386987	Phase I - Solid Tumors
Pembrolizumab Cetuximab	EGFR	NCT02715373	Phase Ib/II - Pretreated CRC
Atezolizumab Capecitabine + bevacizumab	VEGF-A	NCT02875195	Randomized Phase II Refractory CRC
Pembrolizumab Aflibercept	VEGF-A/B, RGF	NCT02298959	Phase I - Solid tumors
Durvalumab Oestradiol	VEGF, KIT	NCT02484484	Phase I/II - Refractory CRC Expansion
Pembrolizumab Mintedanol	VEGF, PDGFR, FGFR	NCT02856425	Phase I/II - CRC
Pembrolizumab Nuprocasin (BBN005)	Cancer stem cells (STAT3)	NCT02801064	Phase I/II Refractory CRC
Pembrolizumab Oral ascorbic acid Kornegay	DNMT HDAC1/2	NCT02512172	Phase I - Pretreated MSS CRC
Pembrolizumab Lactidone Epacastat	DNMT IDG-1	NCT02956437	Phase I/II Refractory NSCLC and MSS CRC
Nivolumab Epacastat	IDG-1	NCT02327070	Phase I/II - Solid tumors, CRC
Pembrolizumab Poly-ICLC	TLR-3	NCT02834052	Phase I/II - MSS CRC
Nivolumab Vartumab	CD-27	NCT02335918	Phase I/II - Solid tumors, CRC
Durvalumab Pachistatin	CSF-1R	NCT02777710	Phase I - Pretreated pancreatic and CRC
Atezolizumab CR-444	Adenosine-A2A	NCT02656622	Phase I - Solid tumors, MSI-H CRC
Nivolumab Capecitabine + RT	Chemoradiation	NCT02946268	Phase I/II - Locally advanced rectal cancer
Durvalumab Tremelimumab Radiation	CTLA-4 Radiation	NCT02886743	Phase II - NSCLC and CRC with liver metastases

CTLA-4: inhibitor cytotoxic T lymphocyte associated antigen 4; CD-27, colony stimulating factor 1 receptor; DNMT, DNA methyltransferase; HDAC, 1/2, histone deacetylase 1/2; IDG-1, indoleamine 2,3-dioxygenase; PDGFR, platelet-derived growth factor receptor; RGF, pro-angiogenic glycan anchor biosynthesis class 1; TLR-3, toll-like receptor; and VEGF-A, vascular endothelial growth factor A.

V. CONCLUSÃO

O CCR continua a ser uma das neoplasias mais comuns com uma incidência de aproximadamente 5000 novos casos/ano em Portugal e associado a uma elevada taxa de mortalidade.

Nos últimos anos têm-se feito progressos acentuados na redução da mortalidade por meio de diagnóstico mais precoce, quer através de planos de rastreio e sensibilização da população para sinais e sintomas, quer através dos avanços científicos na área terapêutica. A modificação dos factores de risco, como o tabagismo, a dieta ou o sedentarismo continua a revelar-se a estratégia mais eficaz de combate a esta patologia.

A colonoscopia é o principal meio de diagnóstico, permitindo diminuir a prevalência de novos casos ao tratar as lesões precursoras, prolongando a sobrevida dos doentes.

Novos avanços do tratamento, quer no campo da cirurgia, da radioterapia, da quimioterapia e da biologia molecular, com foco na imunoterapia, têm conduzido a maiores taxas de cura.

As várias estratégias imunoterapêuticas, em particular os inibidores de checkpoint, têm revelado resultados muito promissores no aumento de sobrevida em pacientes com CCR metastásico quimiorrefractário. Este facto promove o estudo futuro de novos inibidores e da sua eficácia, sobretudo em regime de terapêutica combinada.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Augestad KM, Merok MA, Ignatovic D. Tailored treatment of colorectal cancer: Surgical, molecular, and genetic considerations. *Clin Med Insights Oncol*. 2017;11.
2. Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. *Gut* [Internet]. 2017;66(4):683–91. Available from: <http://gut.bmj.com/lookup/doi/10.1136/gutjnl-2015-310912>
3. Hospital B. A Hospital Based Cohort Study of Colorectal Cancer Cases Treated at Braga Hospital, Northern Portugal. *J Gastrointest Dig Syst* [Internet]. 2013;3(4). Available from: <https://www.omicsonline.org/a-hospital-based-cohort-study-of-colorectal-cancer-cases-treated-at-braga-hospital-northern-portugal-2161-069X-3-146.php?aid=21291>
4. Johns LE, Houlston RS. A systematic review and meta-analysis of familial colorectal cancer risk. *Am J Gastroenterol* [Internet]. 2001;96:2992–3003. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11693338>
5. Hawk ET, Levin B. Colorectal cancer prevention. *J Clin Oncol* [Internet]. 2005;23(2) Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15637400>
6. Czadek P. Chemoprevention of colorectal cancer. Vol. 23, *Polish Annals of Medicine*. 2016. p. 75–9.
7. Gryfe R, Swallow C, Bapat B, Redston M, Gallinger S, Couture J. Molecular biology of colorectal cancer. *Curr Probl Cancer* [Internet]. 2012;21(5):233–300. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9438104>
8. Kiran PR, Glass RE. Duration of symptoms and spread of colorectal cancer: A short history does not mean early disease. *Ann R Coll Surg Engl*. 2002;84(6):381–5.
9. Edge S, Byrd D, Compton C, Al E. *AJCC Cancer Staging Manual*. In: *AJCC: Breast*. 2010. p. 347–76.
10. Mak G, Moschetta M, Arkenau H. Immunotherapy in Colorectal Cancer. In: Rodrigo LBT-CC-FP to T, editor. Rijeka: InTech; 2016. p. Ch. 15. Available from: <http://dx.doi.org/10.5772/63136>
11. Kanas GP, Taylor A, Primrose JN, Langeberg WJ, Kelsh MA, Mowat FS, et al. Survival after liver resection in metastatic colorectal cancer: Review and meta-analysis of prognostic factors. Vol. 4, *Clinical Epidemiology*. 2012. p. 283–301.
12. Bergers G, Hanahan D. Modes of resistance to anti-angiogenic therapy. *Nat Rev Cancer* [Internet]. 2008;8(8):592–603. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nrc2442>
13. Markman JL, Shiao SL. Impact of the immune system and immunotherapy in colorectal cancer. *J Gastrointest Oncol*. 2015;6(2):208–23.
14. Lynch D, Murphy A. The emerging role of immunotherapy in colorectal cancer. *Ann Transl Med* [Internet]. 2016;4(16):305. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=5009029&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

15. Koido S, Ohkusa T, Homma S, Namiki Y, Takakura K, Saito K, et al. Immunotherapy for colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2013;19(46):8531–42.
16. Schwartz RN, Blanke CD, Pesko LJ. Targeted therapies in the treatment of colorectal cancer: what managed care needs to know. *J Manag Care Pharm* [Internet]. 2004;10(5 Suppl B):S2-13-7. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=15546221
17. Maughan NJ, Quirke P. Modern management of colorectal cancer--a pathologist's view. *Scand J Surg* [Internet]. 2003;92(1):11–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12705546%5Cnpapers3://publication/uuid/911A191A-A588-429E-B6DB-F64F0D01B226>
18. Kosmider S, Lipton L. Adjuvant therapies for colorectal cancer. *World J Gastroenterol*. 2007;13(28):3799–805.
19. Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 2000. *CA Cancer J Clin*. 2000;50(1):7–33.
20. Arends JW. Molecular interactions in the Vogelstein model of colorectal carcinoma. Vol. 190, *Journal of Pathology*. 2000. p. 412–6.
21. Lagerstedt Robinson K, Liu T, Vandrovcova J, Halvarsson B, Clendenning M, Frebourg T, et al. Lynch syndrome (hereditary nonpolyposis colorectal cancer) diagnostics. *J Natl Cancer Inst*. 2007;99(4):291–9.
22. Jass JR, Whitehall VLJ, Young J, Leggett BA. Emerging concepts in colorectal neoplasia. *Gastroenterology*. 2002;123(3):862–76.
23. Grady WM. Genomic instability and colon cancer. *Cancer Metastasis Rev*. 2004;23(1–2):11–27.
24. Jass JR. Serrated adenoma of the colorectum and the DNA-methylator phenotype. *Nat Clin Pract Oncol* [Internet]. 2005;2(8):398–405. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/ncponc0248>
25. Leggett BA, Devereaux B, Biden K, Searle J, Young J, Jass J. Hyperplastic polyposis: association with colorectal cancer. *Am J Surg Pathol*. 2001;25(2):177–84.
26. Smith G, Carey FA, Beattie J, Wilkie MJ V, Lightfoot TJ, Coxhead J, et al. Mutations in APC, Kirsten-ras, and p53--alternative genetic pathways to colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2002;99(14):9433–8. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=123158&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
27. Cadigan KM. Wnt signaling: complexity at the surface. *J Cell Sci* [Internet]. 2006;119(3):395–402. Available from: <http://jcs.biologists.org/cgi/doi/10.1242/jcs.02826>
28. Fodde R, Kuipers J, Rosenberg C, Smits R, Kielman M, Gaspar C, et al. Mutations in the APC tumour suppressor gene cause chromosomal instability. *Nat Cell Biol* [Internet]. 2001;3(4):433–8. Available from: <http://eutils.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/eutils/elink.fcgi?dbfrom=pubmed&id=11283620&retmode=ref&cmd=prlinks%5Cnpapers2://publication/doi/10.1038/35070129>
29. Draviam VM, Shapiro I, Aldridge B, Sorger PK. Misorientation and reduced stretching of aligned sister kinetochores promote chromosome missegregation in

- EB1- or APC-depleted cells. *EMBO J* [Internet]. 2006;25(12):2814–27. Available from: <http://emboj.embopress.org/cgi/doi/10.1038/sj.emboj.7601168>
30. Harrison S, Benziger H. The molecular biology of colorectal carcinoma and its implications: A review. Vol. 9, *Surgeon*. 2011. p. 200–10.
 31. Leslie A, Carey FA, Pratt NR, Steele RJC. The colorectal adenoma-carcinoma sequence. Vol. 89, *British Journal of Surgery*. 2002. p. 845–60.
 32. Armaghany T, Wilson JD, Chu Q, Mills G. Genetic alterations in colorectal cancer. *Gastrointest Cancer Res* [Internet]. 2012;5(1):19–27. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22574233><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3348713>
 33. Woodford-Richens KL, Rowan AJ, Gorman P, Halford S, Bicknell DC, Wasan HS, et al. SMAD4 mutations in colorectal cancer probably occur before chromosomal instability, but after divergence of the microsatellite instability pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 2001;98(17):9719–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11481457><http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC55519>
 34. Mills AA. p53: Link to the past, bridge to the future. Vol. 19, *Genes and Development*. 2005. p. 2091–9.
 35. Adams DH. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease [Internet]. Vol. 56, *Gut*. 2007. 1175 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4160-6189-2.00095-0>
 36. Rashid A, Issa JPJ. CpG island methylation in gastroenterologic neoplasia: A maturing field. Vol. 127, *Gastroenterology*. 2004. p. 1578–88.
 37. Levin B. Colorectal cancer [Internet]. *ACP Medicine*. 2006. p. 1–16. Available from: http://www.medicinanet.com.br/m/conteudos/acp-medicine/5293/cancer_colorretal_-_bernard_levin.htm
 38. Platz EA, Willett WC, Colditz GA, Rimm EB, Spiegelman D, Giovannucci E. Proportion of colon cancer risk that might be preventable in a cohort of middle-aged US men. *Cancer Causes Control*. 2000;11(7):579–88.
 39. Oba S, Shimizu N, Nagata C, Shimizu H, Kametani M, Takeyama N, et al. The relationship between the consumption of meat, fat, and coffee and the risk of colon cancer: A prospective study in Japan. *Cancer Lett*. 2006;244(2):260–7.
 40. Norat T, Bingham S, Ferrari P, Slimani N, Jenab M, Mazuir M, et al. Meat, fish, and colorectal cancer risk: The European prospective investigation into cancer and nutrition. *J Natl Cancer Inst*. 2005;97(12):906–16.
 41. Martinez ME, Willett WC. Calcium, vitamin D, and colorectal cancer: a review of the epidemiologic evidence. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 1998;7(2):163–8.
 42. Choi SW, Mason JB. Folate and carcinogenesis: an integrated scheme. *J Nutr* [Internet]. 2000;130(2):129–32. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10720158>
 43. Fuchs CS, Willett WC, Colditz GA, Hunter DJ, Stampfer MJ, Speizer FE, et al. The influence of folate and multivitamin use on the familial risk of colon cancer in women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2002;11(3):227–34.
 44. Dahm CC, Keogh RH, Spencer EA, Greenwood DC, Key TJ, Fentiman IS, et al. Dietary fiber and colorectal cancer risk: A nested case-control study using food diaries. *J Natl Cancer Inst*. 2010;102(9):614–26.

45. Esteves Alves do Forno S, Castro Poças F, Gomes Domingues dos Santos Matos ME. O cancro colorretal e o rastreio: conhecimentos e atitudes dos portugueses. *GE J Port Gastreenterologia*. 2012;19(3):118–25.
46. Terry PD, Miller AB, Rohan TE. Obesity and colorectal cancer risk in women. *Gut* [Internet]. 2002;51(2):191–4. Available from: <http://gut.bmj.com/content/51/2/191.abstract>
47. Cho E, Smith-Warner SA, Ritz J, Van Den Brandt PA, Colditz GA, Folsom AR, et al. Alcohol Intake and Colorectal Cancer: A Pooled Analysis of 8 Cohort Studies. *Ann Intern Med*. 2004;140(8).
48. Homann N, Tillonen J, Salaspuro M. Microbially produced acetaldehyde from ethanol may increase the risk of colon cancer via folate deficiency. *Int J Cancer*. 2000;86(2):169–73.
49. Liang PS, Chen T, Giovannucci E. Cigarette smoking and colorectal cancer incidence and mortality: systematic review and meta-analysis. *Int J Cancer* [Internet]. 2009;124(10):2406–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19142968>
50. Chang CK, Ulrich CM. Hyperinsulinaemia and hyperglycaemia: possible risk factors of colorectal cancer among diabetic patients. *Diabetologia* [Internet]. 2003;46(5):595–607. Available from: <http://www.springerlink.com/openurl.asp?genre=article&id=doi:10.1007/s00125-003-1109-5>
51. Friedenreich CM, Orenstein MR. Physical Activity and Cancer Prevention: Etiologic Evidence and Biological Mechanisms. *J Nutr* [Internet]. 2002;132(11):3456S–3464. Available from: <http://jn.nutrition.org/cgi/content/long/132/11/3456S>
52. Wolin KY, Yan Y, Colditz GA. Physical activity and risk of colon adenoma: a meta-analysis. *Br J Cancer* [Internet]. 2011;104(5):882–5. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/sj.bjc.6606045>
53. Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Thun MJ. Cancer Statistics, 2007. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2007;57(1):43–66. Available from: <http://doi.wiley.com/10.3322/canjclin.57.1.43>
54. Bond JH. Colon Polyps and Cancer. *Endosk Heute*. 2003;16(3):140–2.
55. Society AC. Colorectal Cancer Facts & Figures 2014-2016. *Color Cancer Facts Fig*. 2014;1–32.
56. Freeman H-J. Colorectal cancer risk in Crohn's disease. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2008;14(12):1810. Available from: <http://www.wjgnet.com/1007-9327/14/1810.asp>
57. Higashi D, Futami K, Kawahara K. Study of Colorectal Cancer with Crohn ' s Disease. 2007;3774:3771–4.
58. Jameson JL, Longo DL, Fauci AS, Kasper DL, Lozcalzo J, Hauser SL. Harrison's Principles of Internal Medicine. Harrison's Principles of Internal Medicine, 18th Edition. LONGO DL, FAUCI AS, KASPER DL et al. 2012. 4322 p.
59. Half E, Bercovich D, Rozen P. Familial adenomatous polyposis. *Orphanet J Rare Dis* [Internet]. 2009;4(1):22. Available from: <http://ojrd.biomedcentral.com/articles/10.1186/1750-1172-4-22>
60. Leslie a, Steele RJC. Management of colorectal cancer. *Postgrad Med J*. 2002;78(922):473–8.

61. Lynch HT, Lynch PM, Lanspa SJ, Snyder CL, Lynch JF, Boland CR. Review of the Lynch syndrome: History, molecular genetics, screening, differential diagnosis, and medicolegal ramifications. Vol. 76, Clinical Genetics. 2009. p. 1–18.
62. Silva FC, Valentin MD, Ferreira Fde O, Carraro DM, Rossi BM. Mismatch repair genes in Lynch syndrome: a review. Sao Paulo Med J [Internet]. 2009;127(1):46–51. Available from: <http://www.scielo.br/pdf/spmj/v127n1/a10v1271.pdf>
63. Herráiz M, Muñoz-Navas M. Recognition and management of hereditary colorectal cancer syndromes. Vol. 101, Revista Espanola de Enfermedades Digestivas. 2009. p. 125–32.
64. Vasen HF, Watson P, Mecklin JP, Lynch HT, Lundell L, Osteen R, et al. New clinical criteria for hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC, Lynch syndrome) proposed by the International Collaborative group on HNPCC. Gastroenterology [Internet]. 1999;116(6):1453–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10348829>
65. Umar A, Boland CR, Terdiman JP, Syngal S, Chapelle A d. I., Ruschoff J, et al. Revised Bethesda Guidelines for Hereditary Nonpolyposis Colorectal Cancer (Lynch Syndrome) and Microsatellite Instability. JNCI J Natl Cancer Inst [Internet]. 2004;96(4):261–8. Available from: <https://academic.oup.com/jnci/article-lookup/doi/10.1093/jnci/djh034>
66. Nan H, Hutter CM, Lin Y, Jacobs EJ, Ulrich CM, White E, et al. Association of Aspirin and NSAID Use With Risk of Colorectal Cancer According to Genetic Variants. JAMA [Internet]. 2015;313(11):1133. Available from: <http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2015.1815>
67. Sabiston DC. SABISTON Textbook of SURGERY The Biological Basis of Modern Surgical Practice. expertconsult. 2013. 1689-1699 p.
68. Kasztelan-Szczerbińska B, Cichoz-Lach H, Słomka M. Colorectal cancer as a health care problem: evaluation of the current diagnostic options. Pol Arch Med Wewnętrznej [Internet]. 2008;118(4):224–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18575422>
69. Teixeira AV. Pólipos e cancro do cólon e recto. Arq Med. 2009;23(6):209–16.
70. Lewis R, Flynn A, Dean ME, Melville A, Eastwood A, Booth A. Management of colorectal cancers. Qual Saf Health Care [Internet]. 2004;13(5):400–4. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15465947>
71. McHugh SM, O'Donnell J, Gillen P. Genomic and oncoproteomic advances in detection and treatment of colorectal cancer. World J Surg Oncol [Internet]. 2009;7:36. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2667518&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
72. Meyerhardt JA, Mayer RJ. Systemic therapy for colorectal cancer. N Engl J Med [Internet]. 2005;352(5):476–87. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15689586>
73. van der Voort van Zijp J, Hoekstra HJ, Basson MD. Evolving management of colorectal cancer. Vol. 14, World Journal of Gastroenterology. 2008. p. 3956–67.
74. Wolpin BM, Mayer RJ. Systemic Treatment of Colorectal Cancer. Vol. 134, Gastroenterology. 2008.
75. Schwartz RN, Blanke CD, Pesko LJ. Targeted therapies in the treatment of colorectal cancer: what managed care needs to know. J Manag Care Pharm.

2004;10(5 Suppl B):S2-13-7.

76. Wolpin BM, Meyerhardt J a., Mamon HJ, Mayer RJ. Adjuvant Treatment of Colorectal Cancer. *CA Cancer J Clin* [Internet]. 2007;57(3):168–85. Available from: <http://doi.wiley.com/10.3322/canjclin.57.3.168>
77. Sobin L, Gospodarowicz M WC. *TNM Classification of Malignant Tumours*, 7th Edition. Wiley. 2009. p. 243–6.
78. Greene FL, Stewart AK, Norton HJ. A new TNM staging strategy for node-positive (stage III) colon cancer: an analysis of 50,042 patients. *Ann Surg* [Internet]. 2002;236(4):416–21; discussion 421. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=1422595&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
79. Compton CC. Colorectal carcinoma: diagnostic, prognostic, and molecular features. *Mod Pathol* [Internet]. 2003;16(4):376–88. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12692203>
80. van de Wall BJM, Draaisma WA, Schouten ES, Broeders IAMJ, Consten ECJ. Conventional and laparoscopic reversal of the hartmann procedure: A review of literature. Vol. 14, *Journal of Gastrointestinal Surgery*. 2010. p. 743–52.
81. Goldberg RM. Therapy for metastatic colorectal cancer. *Oncologist*. 2006;11:981–7.
82. O’Neil BH, Goldberg RM. Innovations in chemotherapy for metastatic colorectal cancer: an update of recent clinical trials. *Oncologist* [Internet]. 2008;13(10):1074–83. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18922828>
83. Cassidy J, Clarke S, Díaz-Rubio E, Scheithauer W, Figer A, Wong R, et al. XELOX vs FOLFOX-4 as first-line therapy for metastatic colorectal cancer: NO16966 updated results. *Br J Cancer* [Internet]. 2011;105(1):58–64. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/bjc.2011.201>
84. Fallik D, Borriani F, Boige V, Viguier J, Jacob S, Miquel C, et al. Microsatellite instability is a predictive factor of the tumor response to irinotecan in patients with advanced colorectal cancer. *Cancer Res*. 2003;63(6):5738–44.
85. Stintzing S, Heinemann V, Moosmann N, Hiddemann W, Jung A, Kirchner T. The treatment of colorectal carcinoma with monoclonal antibodies: the importance of KRAS mutation analysis and EGFR status. *Dtsch Arztebl Int* [Internet]. 2009;106(12):202–6. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2680580&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
86. Scheer MGW, Sloots CEJ, Van der Wilt GJ, Ruers TJM. Management of patients with asymptomatic colorectal cancer and synchronous irresectable metastases. Vol. 19, *Annals of Oncology*. 2008. p. 1829–35.
87. Luddy KA, Robertson-Tessi M, Tafreshi N, Soliman H, Morse DL. The role of toll-like receptors in colorectal cancer progression: Evidence for epithelial to leucocytic transition (ELT). *Front Immunol*. 2014;5(AUG).
88. Kindt T, Goldsby R, Osborne B, Kuby J. Kuby immunology. *J Exp Med* [Internet]. 2007;206(13):2925–35. Available from: <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Kuby+Immunology#0%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=2806476&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
89. Garziera M, Toffoli G. Inhibition of host immune response in colorectal cancer: Human leukocyte antigen-G and beyond. *World J Gastroenterol*.

- 2014;20(14):3778–94.
90. Wittig B, Schmidt M, Scheithauer W, Schmoll HJ. MGN1703, an immunomodulator and toll-like receptor 9 (TLR-9) agonist: From bench to bedside. Vol. 94, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 2015. p. 31–44.
 91. Pernot S, Terme M, Voron T, Colussi O, Marcheteau E, Tartour E, et al. Colorectal cancer and immunity: What we know and perspectives. *World J Gastroenterol*. 2014;20(14):3738–50.
 92. Pedroza-Pacheco I, Madrigal A, Saudemont A. Interaction between natural killer cells and regulatory T cells: perspectives for immunotherapy. *Cell Mol Immunol* [Internet]. 2013;10(3):222–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23524654> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4012769>
 93. Grizzi F, Bianchi P, Malesci A, Laghi L. Prognostic value of innate and adaptive immunity in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2013;19(2):174–84. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23345940> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3547568> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3547568&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
 94. Dey A, Allen J, Hankey-Giblin PA. Ontogeny and polarization of macrophages in inflammation: Blood monocytes versus tissue macrophages. Vol. 6, *Frontiers in Immunology*. 2015.
 95. Okabe Y, Medzhitov R. Tissue-specific signals control reversible program of localization and functional polarization of macrophages. *Cell*. 2014;157(4):832–44.
 96. Hume DA. The many alternative faces of macrophage activation. Vol. 6, *Frontiers in Immunology*. 2015.
 97. Colegio OR, Chu N-Q, Szabo AL, Chu T, Rhebergen AM, Jairam V, et al. Functional polarization of tumour-associated macrophages by tumour-derived lactic acid. *Nature* [Internet]. 2014;513(7519):559–63. Available from: <http://www.nature.com/doi/10.1038/nature13490>
 98. Pancione M, Giordano G, Remo A, Febbraro A, Sabatino L, Manfrin E, et al. Immune escape mechanisms in colorectal cancer pathogenesis and liver metastasis. Vol. 2014, *Journal of immunology research*. 2014. p. 686879.
 99. Gri G, Frossi B, D’Inca F, Danelli L, Betto E, Mion F, et al. Mast cell: An emerging partner in immune interaction. Vol. 3, *Frontiers in Immunology*. 2012.
 100. Marech I, Ammendola M, Gadaleta C, Zizzo N, Oakley C, Gadaleta CD, et al. Possible biological and translational significance of mast cells density in colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology*. 2014. p. 8910–20.
 101. da Silva EZM, Jamur MC, Oliver C. Mast Cell Function: A New Vision of an Old Cell [Internet]. Vol. 62, *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 2014. 698–738 p. Available from: [/pmc/articles/PMC4230976/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC4230976/?report=abstract)
 102. Dalton DK, Noelle RJ. The roles of mast cells in anticancer immunity. In: *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 2012. p. 1511–20.
 103. Huang X, Yang Y. Targeting the TLR9–MyD88 pathway in the regulation of adaptive immune responses. *Expert Opin Ther Targets* [Internet]. 2010;14(8):787–96. Available from: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/14728222.2010.501333>

104. Donskov F. Immunomonitoring and prognostic relevance of neutrophils in clinical trials. Vol. 23, *Seminars in Cancer Biology*. 2013. p. 200–7.
105. Mariani F, Sena P, Roncucci L. Inflammatory pathways in the early steps of colorectal cancer development. *World J Gastroenterol*. 2014;20:9716–31.
106. Maeda K, Shibutani M, Otani H, Nagahara H, Ikeya T, Iseki Y, et al. Inflammation-based factors and prognosis in patients with colorectal cancer. *World J Gastrointest Oncol* [Internet]. 2015;7(8):111–7. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=4543728&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
107. Disis ML. Immune regulation of cancer. Vol. 28, *Journal of Clinical Oncology*. 2010. p. 4531–8.
108. Iodice V, Lagana B, Lauri C, Capriotti G, Germano V, D'Amelio R, et al. Imaging B lymphocytes in autoimmune inflammatory diseases. *Q J Nucl Med Mol Imaging*. 2014;58(3):258–68.
109. Singh PP, Sharma PK, Krishnan G, Lockhart AC. Immune checkpoints and immunotherapy for colorectal cancer. *Gastroenterol Rep* [Internet]. 2015;gov053. Available from: <https://academic.oup.com/gastro/article-lookup/doi/10.1093/gastro/gov053>
110. Sanborn RE, Sharfman WH, Segal NH, Hodi FS, Wolchok JD, Urba WJ, et al. A phase I dose-escalation and cohort expansion study of lirilumab (anti-KIR; BMS-986015) administered in combination with nivolumab (anti-PD-1; BMS-936558; ONO-4538) in patients (Pts) with advanced refractory solid tumors. *ASCO Meet Abstr* [Internet]. 2013;31:TPS3110. Available from: http://hwmaint.meeting.ascopubs.org/cgi/content/abstract/31/15_suppl/TPS3110
111. Ruers T, Punt C, Van coevorden F, Pierie JPEN, Borel-Rinkes I, Ledermann JA, et al. Radiofrequency ablation combined with systemic treatment versus systemic treatment alone in patients with non-resectable colorectal liver metastases: A randomized eortc intergroup phase ii study (EORTC 40004). *Ann Oncol*. 2012;23(10):2619–26.
112. Vermorken JB, Claessen AM, van Tinteren H, Gall HE, Ezinga R, Meijer S, et al. Active specific immunotherapy for stage II and stage III human colon cancer: a randomised trial. *Lancet* [Internet]. 1999;353(9150):345–50. Available from: [papers3://publication/doi/10.1016/S0140-6736\(98\)07186-4](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10544444)
113. Berd D. Autologous, hapten-modified vaccine as a treatment for human cancers. In: *Vaccine*. 2001. p. 2565–70.
114. Klebanoff CA, Acquavella N, Yu Z, Restifo NP. Therapeutic cancer vaccines: Are we there yet? *Immunol Rev*. 2011;239(1):27–44.
115. Hanna MG, Hoover HC, Vermorken JB, Harris JE, Pinedo HM. Adjuvant active specific immunotherapy of stage II and stage III colon cancer with an autologous tumor cell vaccine: First randomized phase III trials show promise. In: *Vaccine*. 2001. p. 2576–82.
116. Li Q, Normolle DP, Sayre DM, Zeng X, Sun R, Jiang G, et al. Immunological Effects of BCG as an Adjuvant in Autologous Tumor Vaccines. *Clin Immunol* [Internet]. 2000;94(1):64–72. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1521661699948209>
117. Salgia R, Lynch T, Skarin A, Lucca J, Lynch C, Jung K, et al. Vaccination with irradiated autologous tumor cells engineered to secrete granulocyte-macrophage

colony-stimulating factor augments antitumor immunity in some patients with metastatic non-small-cell lung carcinoma. *J Clin Oncol* [Internet]. 2003;21(4):624–30. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&dopt=Citation&list_uids=12586798

118. Soiffer R, Hodi FS, Haluska F, Jung K, Gillesen S, Singer S, et al. Vaccination with irradiated, autologous melanoma cells engineered to secrete granulocyte-macrophage colony-stimulating factor by adenoviral-mediated gene transfer augments antitumor immunity in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol*. 2003;21(17):3343–50.
119. Lam HY, Yeap SK, Rasoli M, Omar AR, Yusoff K, Suraini AA, et al. Safety and clinical usage of newcastle disease virus in cancer therapy. *J Biomed Biotechnol* [Internet]. 2011;2011:718710. Available from: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=3205905&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>
120. Bartnik A, Nirmal AJ, Yang S-Y. Peptide Vaccine Therapy in Colorectal Cancer. *Vaccines* [Internet]. 2012;1(1):1–16. Available from: <http://www.mdpi.com/2076-393X/1/1/1/htm>
121. Moulton HM, Yoshihara PH, Mason DH, Iversen PL, Triozzi PL. Active Specific Immunotherapy with a {beta}-Human Chorionic Gonadotropin Peptide Vaccine in Patients with Metastatic Colorectal Cancer: Antibody Response Is Associated with Improved Survival. *Clin Cancer Res* [Internet]. 2002;8(7):2044–51. Available from: <http://clincancerres.aacrjournals.org/content/8/7/2044.long>
122. Mayer F, Andrea M-M, Nowara E, Torday L, Ludwig J, Kuttruff S, et al. A phase I/II trial of the multi-peptide cancer vaccine IMA910 in patients with advanced colorectal cancer (CRC). *J Clin Oncol* [Internet]. 2012;30(4). Available from: http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L71011774%5Cnhttp://meeting.ascopubs.org/cgi/content/abstract/30/4_suppl/555?sid=41d21111-2679-4e95-94a5-776b58824073%5Cnhttp://sfx.library.uu.nl/utrecht?sid=EMBASE&issn=0732183X&id=doi:&a
123. Fong L, Hou Y, Rivas a, Benike C, Yuen a, Fisher G a, et al. Altered peptide ligand vaccination with Flt3 ligand expanded dendritic cells for tumor immunotherapy. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:8809–14.
124. Xiang B, Snook AE, Magee MS, Waldman SA. Colorectal cancer immunotherapy. *Discov Med* [Internet]. 2013;15(84):301–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23725603%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4042089>
125. Larocca C, Schlom J. Viral Vector-Based Therapeutic Cancer Vaccines. *Cancer J* [Internet]. 2011;17(5):359–71. Available from: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00130404-201109000-00015>
126. Marshall JL, Gulley JL, Arlen PM, Beetham PK, Tsang KY, Slack R, et al. Phase I study of sequential vaccinations with fowlpox-CEA(6D)-TRICOM alone and sequentially with vaccinia-CEA(6D)-TRICOM, with and without granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, in patients with carcinoembryonic antigen-expressing carcinomas. *J Clin Oncol*. 2005;23(4):720–31.
127. Horig H, Lee DS, Conkright W, Divito J, Hasson H, LaMare M, et al. Phase I clinical

- trial of a recombinant canarypoxvirus (ALVAC) vaccine expressing human carcinoembryonic antigen and the B7.1 co-stimulatory molecule. *Cancer Immunol Immunother.* 2000;49(9):504–14.
128. Kaufman HL, Lenz H-J, Marshall J, Singh D, Garrett C, Cripps C, et al. Combination chemotherapy and ALVAC-CEA/B7.1 vaccine in patients with metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2008;14(15):4843–9.
 129. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer Immunoediting: Integrating Immunity's Roles in Cancer Suppression and Promotion. *Science* (80-) [Internet]. 2011;331(6024):1565–70. Available from: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1203486>
 130. Nirschl CJ, Drake CG. Molecular pathways: Coexpression of immune checkpoint molecules: Signaling pathways and implications for cancer immunotherapy. *Clin Cancer Res.* 2013;19(18):4917–24.
 131. Maawy A, Boland PM. Immune checkpoint inhibitors in cancer therapy. *J Biomed Res* [Internet]. 2017;1–13. Available from: http://www.jbr-pub.org/ch/reader/view_news.aspx?id=20170630022250001
 132. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, Weber RW, Sosman JA, Haanen JB, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med* [Internet]. 2010;363(8):711–23. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20525992> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3549297>
 133. Ito A, Kondo S, Tada K, Kitano S. Clinical Development of Immune Checkpoint Inhibitors. Vol. 2015, BioMed Research International. 2015.
 134. Topalian SL, Hodi FS, Brahmer JR, Gettinger SN, Smith DC, McDermott DF, et al. Safety, Activity, and Immune Correlates of Anti-PD-1 Antibody in Cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2012;366(26):2443–54. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1200690>
 135. Le DT, Uram JN, Wang H, Bartlett BR, Kemberling H, Eyring AD, et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med* [Internet]. 2015;372(26):2509–20. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1500596>
 136. Infante JR, Naing A, Papadopoulos KP, Autio KA, Ott PA, Lee Wong DJ, et al. A first-in-human dose escalation study of PEGylated recombinant human IL10 (AM0010) in advanced solid tumors. *J Clin Oncol* [Internet]. 2015;33(15). Available from: http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L72011607%5Cnhttp://meeting.ascopubs.org/cgi/content/abstract/33/15_suppl/3017?sid=5f7ed15c-9ad9-4f2f-b03b-352b0b1838da%5Cnhttp://sfx.library.uu.nl/utrecht?sid=EMBASE&issn=0732183X&id=doi
 137. Yesudhas D, Gosu V, Anwar MA, Choi S. Multiple roles of toll-like receptor 4 in colorectal cancer. Vol. 5, *Frontiers in Immunology*. 2014.
 138. Li T-T, Ogino S, Qian ZR. Toll-like receptor signaling in colorectal cancer: carcinogenesis to cancer therapy. *World J Gastroenterol* [Internet]. 2014;20(47):17699–708. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25548469> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4273121>

139. Klampfer L. Cytokines, Inflammation and Colon Cancer. *Curr Cancer Drug Targets* [Internet]. 2011;11(4):451–64. Available from: <http://www.eurekaselect.com/openurl/content.php?genre=article&issn=1568-0096&volume=11&issue=4&spage=451>
140. Fan Y, Liu B. Expression of Toll-like receptors in the mucosa of patients with ulcerative colitis. *Exp Ther Med*. 2015;9(4):1455–9.
141. Eiró N, González L, González LO, Andicoechea A, Fernández-Díaz M, Altadill A, et al. Study of the expression of toll-like receptors in different histological types of colorectal polyps and their relationship with colorectal cancer. *J Clin Immunol*. 2012;32(4):848–54.
142. Melisi D, Frizziero M, Tamburrino A, Zanotto M, Carbone C, Piro G, et al. Toll-Like Receptor 9 Agonists for Cancer Therapy. *Biomedicines* [Internet]. 2014;2(3):211–28. Available from: <http://www.mdpi.com/2227-9059/2/3/211/>
143. Weihrauch MR, Richly H, von Bergwelt-Baildon MS, Hacker U, Shimabukuro-Vornhagen A, Nokay B, et al. Phase I clinical study of the toll-like receptor 9 agonist MGN1703 in patients with metastatic solid tumours. *Eur J Cancer Suppl* [Internet]. 2015;51(2):146–56. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejca.2014.11.002>
144. Schmoll HJ, Wittig B, Arnold D, Riera-Knorrenschild J, Nitsche D, Kroening H, et al. Maintenance treatment with the immunomodulator MGN1703, a Toll-like receptor 9 (TLR9) agonist, in patients with metastatic colorectal carcinoma and disease control after chemotherapy: A randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2014;140(9):1615–24.
145. Riera-Knorrenschild J, Arnold D, Kopp H, Mayer F, Kroening H, Nitsche D, et al. A subgroup with improved overall survival from the phase 2 IMPACT study: Maintenance therapy of metastatic colorectal cancer patients with the TLR-9 agonist MGN1703. *J Clin Oncol* [Internet]. 2015;33(15 SUPPL. 1). Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/o/cochrane/clcentral/articles/322/CN-01130322/frame.html>
146. Abbas Abul K., Lichtman; AH, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*. Vol. 8^a ed., Elsevier. 2014. 544 p.
147. Restifo N, Dudley M, Rosenberg SA. Adoptive immunotherapy for cancer: harnessing the T cell response. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2012;12(April):269–81. Available from: <http://www.nature.com/nri/journal/v12/n4/abs/nri3191.html>
148. Rosenberg SA, Yang JC, Sherry RM, Kammula US, Hughes MS, Phan GQ, et al. Durable complete responses in heavily pretreated patients with metastatic melanoma using T-cell transfer immunotherapy. *Clin Cancer Res*. 2011;17(13):4550–7.
149. Kochenderfer JN, Wilson WH, Janik JE, Dudley ME, Stetler-Stevenson M, Feldman SA, et al. Eradication of B-lineage cells and regression of lymphoma in a patient treated with autologous T cells genetically engineered to recognize CD19. *Blood*. 2010;116(20):4099–102.
150. Parkhurst MR, Yang JC, Langan RC, Dudley ME, Nathan D-AN, Feldman SA, et al. T Cells Targeting Carcinoembryonic Antigen Can Mediate Regression of Metastatic Colorectal Cancer but Induce Severe Transient Colitis. *Mol Ther* [Internet]. 2011;19(3):620–6. Available from:

<http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1525001616304117>

151. Van Cutsem E, Köhne C-H, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien C-R, Makhson A, et al. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* [Internet]. 2009;360(14):1408–17. Available from: <http://www.nejm.org/doi/full/10.1056/NEJMoa0805019%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19339720>
152. Giusti RM, Shastri KA, Cohen MH, Keegan P, Pazdur R. FDA drug approval summary: panitumumab (Vectibix). *Oncologist* [Internet]. 2007;12(5):577–83. Available from: <http://theoncologist.alphamedpress.org/content/12/5/577.full>
153. Cohen MH, Gootenberg J, Keegan P, Pazdur R. FDA drug approval summary: bevacizumab plus FOLFOX4 as second-line treatment of colorectal cancer. *Oncologist*. 2007;12:356–61.
154. Wang T-F, Lockhart AC. Aflibercept in the treatment of metastatic colorectal cancer. *Clin Med Insights Oncol*. 2012;6:19–30.
155. Grothey A, Van Cutsem E, Sobrero A, Siena S, Falcone A, Ychou M, et al. Regorafenib monotherapy for previously treated metastatic colorectal cancer (CORRECT): an international, multicentre, randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* [Internet]. 2013;381(9863):303–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23177514>
156. Kurniali PC, Hrinczenko B, Al-Janadi A. Management of locally advanced and metastatic colon cancer in elderly patients. Vol. 20, *World Journal of Gastroenterology*. 2014. p. 1910–22.
157. Pavlidis ET, Pavlidis TE. Role of bevacizumab in colorectal cancer growth and its adverse effects: A review. Vol. 19, *World Journal of Gastroenterology*. 2013. p. 5051–60.
158. Jiang Z, Li C, Li F, Wang X. EGFR Gene Copy Number as a Prognostic Marker in Colorectal Cancer Patients Treated with Cetuximab or Panitumumab: A Systematic Review and Meta Analysis. *PLoS One*. 2013;8(2).
159. Wolchok JD, Kluger H, Callahan MK, Postow MA, Rizvi NA, Lesokhin AM, et al. Nivolumab plus Ipilimumab in Advanced Melanoma. *N Engl J Med* [Internet]. 2013;369(2):122–33. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa1302369>
160. Teply BA, Lipson EJ. Identification and management of toxicities from immune checkpoint-blocking drugs. *Oncology (Williston Park)* [Internet]. 2014;28(11 Suppl 3):1–12. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25384885>

Fontes de informação científica e regulamentar e páginas web de interesse:

<https://ec.europa.eu>

<http://www.fda.gov>

<http://www.infarmed.pt/>

<http://www.who.int/en/>

<http://www.scielo.org/>

<http://www.sciencedirect.com/>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>

www.nature.com/

www.medscape.org/

www.spg.pt/

<http://www.sped.pt/>

<https://gi.org/>

www.gastro.org/

<https://www.ueg.eu/about-ueg/heg/>

<https://www.ligacontracancro.pt>

<http://www.europacoln.pt/>

ANEXOS

Anexo 1: Esquema ilustrativo dos componentes imunoterapêuticos no cancro do colo-rectal.

<http://atm.amegroups.com/article/viewFile/11487/html/68906>

Anexo 2: Carcinogénese do CCR

<http://3.bp.blogspot.com/-7AUweN9wps0/T5nBNLqDGhI/AAAAAAAAAGo/QnMsOrWy9A/s759/carcinogenesis.jpg><http://patologiab.blogspot.pt/>

Anexo 3: Critérios de Amesterdão

Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7979204>

Anexo 4: Critérios de Amesterdão II

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10348829>

Anexo 5: Critérios de Bethesda revistos

<https://academic.oup.com/jnci/article-lookup/doi/10.1093/jnci/djh034>

Anexo 6: Factores de risco do CCR

<http://www.medscape.com/viewarticle/502838>

Anexo 7: Estratificação do rastreio do CCR em função da história familiar

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12557158>

Anexo 8: Rastreio do CCR na população de risco aumentado

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12557158>

Anexo 9: Sistema de classificação TMN

http://3.bp.blogspot.com/_LJ4l5ZnkjE/TTxxe1Osa1I/AAAAAAAAADM/J-wOG86HmIE/s320/Capture-5.jpghttp://cancerology.blogspot.pt/2011_01_23_archive.html

Anexo 10: Sistema de classificação *TMN* e definições

<http://www.springer.com/it/book/9780387884400#aboutBook>

Anexo 11: Colectomia direita com anastomose ileocólica

https://www.google.pt/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=images&cd=&cad=rja&uact=8&ved=0ahUKEwiF5beG66jXAhWBIRQKHYYccB0QQjRwIBw&url=http%3A%2F%2Fderival.com.br%2Fdoencas%2Fdoencas-do-colon%2Fcancer-colorretal%2F&psig=AOvVaw07nC9WYGWNILQz_FG3ds2c&ust=1510019426479044

Anexo 12: Esquemas quimioterapêuticos do CCR e seus efeitos adversos

<http://fightcolorectalcancer.org/fight-it/managing-side-effects/http://beasurvivor-colorectal.com/side-effects-of-chemotherapy/>

Anexo 13: Os três E's de *cancer immunoediting*

<http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.1203486>

Anexo 14: Modos de indução de citotoxicidade pelas células NK

<http://www.nature.com/doi/10.1038/nrc928>

Anexo 15: Cascata de adesão leucocitária

<http://www.nature.com/doi/10.1038/nri2156>

Anexo 16: Resposta imunitária mediada por linfócitos T via APC

<https://sites.google.com/site/glasgowunimedicine/home/immunology?tmpl=%2Fsystem%2Fapp%2Ftemplates%2Fprint%2F&showPrintDialog=1>

Anexo 17: Cronograma dos avanços mais importantes na Imunoterapia anti- tumoral

<http://www.nature.com/doi/10.1038/nrd3500%5Cnhttp://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21804596>

Anexo 18: Estratégias de vacinação para o CCR

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3870498/pdf/WJG-19-8531.pdf>

Anexo 19: Mecanismo de inibição dos checkpoint's CTLA-4 e PD-1

<http://clincancerres.aacrjournals.org/content/clinres/22/16/3992/F1.medium.gif>

Anexo 20: Ensaios clínicos de AC's monoclonais como inibidores de checkpoint em CCR

<http://www.targetedonc.com/publications/targeted-therapies-cancer/2017/2017-february/immune-checkpoint-inhibitors-in-crc?p=2>

Anexo 21: Ensaios clínicos em curso de mAc's para CRC

<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=5009029&tool=pmcentrez&rendertype=abstract>

Anexo 22: Ensaios clínicos de terapia combinada para inibidores PD1/L1

http://www.jbr-pub.org/ch/reader/view_news.aspx?id=20170630022250001